

УДК 575. 852+581. 2: 581. 151

ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ: МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ, ФУНКЦИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ

© 2003 г. С. Н. Шамрай

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, биологический факультет,
кафедра микологии и фитоиммунологии
61077 Харьков, Украина, пл. Свободы, 4
e-mail: Sergei. N. Shamrai@univer. kharkov. ua

Поступила в редакцию 18. 02. 2002 г.

Рассмотрены современные данные по молекулярной организации, генетической архитектуре, функции и эволюции генов устойчивости (генов *R*) растений, обуславливающих индукцию защитных реакций при поражении фитопатогенными организмами. В настоящее время клонировано более 30 генов устойчивости из разных видов однодольных и двудольных растений. Кодированные этими генами белки прямо или косвенно распознают специфические детерминанты авирулентности фитопатогенных организмов и индуцируют начальные этапы сигнального каскада(ов), приводящего к устойчивости. Гены устойчивости занимают значительную долю генома растения и чаще всего представлены тесно связанными генными семействами. Эволюция генов *R* происходит посредством дупликации, неэквивалентного кроссинговера и конверсии. Некоторые классы генов устойчивости растений, возможно, имеют общее эволюционное происхождение с генами, контролирующими врожденный иммунитет животных, в древнейшем механизме защиты.

Растения являются потенциальными хозяевами многочисленных вирусов, микроорганизмов, беспозвоночных животных и даже других растений, пытающихся внедриться в растительные ткани и их использовать. В связи с этим способность противостоять атаке патогенов важна для растительного организма. В отличие от позвоночных животных растения лишены антител и способности к фагоцитозу, не имеют кровеносной системы и гуморальных факторов иммунитета. Взамен этого каждая растительная клетка должна обладать сформированной заранее и/или индуцируемой защитой (Walbot, 1985).

Генетический анализ взаимоотношений растений и фитопатогенных организмов часто обнаруживает высокоспецифическое взаимодействие, называемое взаимодействием "ген-на-ген". Впервые его выявил в 1940-х годах американский фитопатолог Флор (Flor, 1971) для взаимодействия растений льна с возбудителем ржавчины грибом *Melampsora lini*. Заражая разные сорта льна различными биотипами возбудителя, он обнаружил, что наблюдаемые данные хорошо объясняются предположением, что каждому гену устойчивости растения, имеющему доминантный аллель устойчивости, соответствует комплементарный ген гриба, имеющий доминантный аллель авирулентности. Таким образом, при взаимодействии ген-на-ген устойчивость растений является специфической и индуцируется тогда, когда продукты генов

устойчивости растительного организма распознают продукты генов, определяющих авирулентность фитопатогена. В дальнейшем это предположение было подтверждено для многих других патосистем, включающих самых различных растений-хозяев и патогенов, представленных вирусами, бактериями, грибами, нематодами, насекомыми и даже цветковыми растениями (Flor, 1971).

Общепринятыми обозначениями являются *R* для доминантной аллели гена устойчивости растения и *Avr* для доминантной аллели авирулентности фитопатогенного организма, а соответствующие белковые продукты генов обозначают как *R* и *Avr*. Схематически последствия взаимодействия ген-на-ген показаны в табл. 1.

Таблица 1. Устойчивость (У) и восприимчивость (В) сортов или линий растения-хозяина при взаимодействии ген-на-ген с фитопатогенным организмом

Генотип патогена	Генотип растения-хозяина			
	<i>R₁R₂</i>	<i>R₁r₂</i>	<i>r₁R₂</i>	<i>r₁r₂</i>
<i>Avr₁Avr₂</i>	У	У	У	В
<i>Avr₁avr₂</i>	У	У	В	В
<i>avr₁Avr₂</i>	У	В	У	В
<i>avr₁avr₂</i>	В	В	В	В

Примечание. Показано взаимодействие двух генов устойчивости *R₁* и *R₂* и двух генов авирулентности *Avr₁* и *Avr₂*.

После идентификации генов устойчивости методами классической генетики возник вопрос, какие белки ими кодируются. В течение длительного времени фитоиммунологи могли высказать только умозрительные соображения по этому поводу. Однако ситуация разительно изменилась с начала 1990-х годов. К настоящему времени наблюдается значительный прогресс в понимании функции продуктов генов *R*, и хотя в этой области остается еще много неясных вопросов, накопленные данные позволяют сделать важные обобщения и высказать обоснованные предположения. Цель настоящего обзора – обобщение современных сведений относительно молекулярной организации, функции и эволюции генов устойчивости растений.

КЛАССЫ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ КОДИРУЕМЫХ ИМИ БЕЛКОВ

Фитопатогенные организмы обладают большим разнообразием жизненных стратегий и механизмов патогенности, но, как ни удивительно, гены *R* кодируют сравнительно небольшое число типов белков с общими консервативными аминокислотными мотивами. В число таких общих структурных тем входят сайт связывания нуклеотидов (nucleotide-binding site, NBS), обогащенный лейцином повтор (leucine-rich repeat, LRR), область с гомологией цитоплазматическим доменам рецепторного белка Toll *Drosophila* и рецептора интерлейкина-1 млекопитающих (Toll/Interleukin-1 receptor, TIR), суперспиральная структура (coiled-coil structure, CC), трансмембранный домен (transmembrane domain, TM) и домен серин/треонинспецифической протеинкиназы (serine/threonine protein kinase domain, PK).

На основании присутствующих аминокислотных последовательностей кодируемых белков выделяют несколько классов генов *R*. Однако в этом вопросе нет устоявшейся классификации, и разные авторы выделяют от пяти (Hammond-Kosack, Jones J., 1997; Baker et al., 1997; Martin, 1999; Dangl, Jones J., 2001) до восьми (Hulbert et al., 2001) классов генов устойчивости растений. В настоящем обзоре *R*-гены растений подразделены на семь классов. Некоторые клонированные гены устойчивости растений и их распределение по классам приведены в табл. 2 (порядок и нумерация классов являются произвольными). Молекулярная организация и предполагаемая локализация белковых продуктов этих генов схематически изображены на рис. 1.

Большинство белков, кодируемых клонированными к настоящему времени генами устойчивости, локализованы в цитоплазме, хотя они могут быть ассоциированы с клеточной мембраной через другие белки (Boyes et al., 1998) или быть заяко-

ренными в ней (Xiao et al., 2001). Цитоплазматические белки кодируются первыми пятью классами генов устойчивости из семи, приведенных в табл. 2. За исключением продуктов генов *Hm* (см. ниже), эти *R*-белки распознают продукты комплиментарных генов авирулентности фитопатогенных организмов внутри клетки растения, что показано в некоторых случаях непосредственно (Gopalan et al., 1996). Присутствие белков – продуктов генов авирулентности в цитоплазме клетки растения очевидно для вирусных патогенов; фитопатогенные бактерии вводят свои белки в клетку растения-хозяина посредством системы секреции типа III (Lahaye, Bonas, 2001). Однако *R*-гены, кодирующие цитоплазматические белки, определяют также *Avr*-зависимую устойчивость к грибам, нематодам и насекомым (табл. 2). Каким образом эти организмы доставляют свои белки внутрь клеток растений, пока совершенно неясно.

Два оставшихся класса генов устойчивости кодируют белки, имеющие внеклеточные домены обогащенных лейцином повторов. Они взаимодействуют с *Avr*-белками фитопатогенных организмов, выделяемыми во внеклеточное пространство.

Класс 1. Гены устойчивости, кодирующие НС-токсинредуктазу

В этот класс входят гены *Hm1* и *Hm2* кукурузы, обуславливающие устойчивость к расе 1 гриба *Cochliobolus carbonum* (Multani et al., 1998) (рис. 1, а). Они отличаются от остальных генов устойчивости тем, что не участвуют во взаимодействии по типу ген-на-ген, т. е. для их действия нет необходимости в экспрессии генов *Avr*. По этой причине некоторые специалисты не относят эти гены к числу генов *R* растений (Martin, 1999; Dangl, Jones J., 2001). Тем не менее *Hm*-гены являются хорошо изученными, имеют древнее эволюционное происхождение, повсеместно распространены у злаков (см. ниже) и не имеют никакого другого очевидного фенотипического проявления, кроме как защита от фитопатогенного гриба (причем они экспрессируются до заражения, как и другие гены устойчивости). Вследствие этого я их включаю в настоящий обзор, не претендуя, однако, на то, что такой подход является бесспорным.

Вирулентность *C. carbonum* раса 1 определяется биосинтезом НС-токсина – циклического тетрапептида (Panaccione et al., 1992; Walton, 1996). Токсин является единственным детерминантом вирулентности гриба: биотипы *C. carbonum*, которые не продуцируют НС-токсин, имеют слабую вирулентность (Panaccione et al., 1992). Пока не до конца понятно, каким образом НС-токсин позволяет грибу колонизовать восприимчивые линии кукурузы. Его токсический эффект проявляется в ингибировании деацетилазы гистонов, поэтому предполагается, что таким образом нарушается

Таблица 2. Семь классов клонированных генов устойчивости растений

Класс	Ген или локус R	Растение	Патоген	Ген Avr	Особенности белка R	Ссылка
1	*Hm1, *Hm2	Кукуруза	Гриб <i>Cochliobolus carbonum</i> paca 1	—	НС-токсинредуктаза	Johal, Briggs, 1992; Multani et al., 1998
2a	N	Табак	Вирус табачной мозаики	Репликаза ВТМ	TIR-NBS-LRR	Whitham et al., 1994
	M	Лен	Гриб <i>Melampsora lini</i>	AM		Ellis et al., 1997
	L6			AL6		Lawrence et al., 1995
	RPP5			avrPp5		Parker et al., 1997; Baker et al., 1997
2b	RPP1- <i>WsA</i> , - <i>WsB</i> , - <i>WsC</i>	<i>Arabidopsis</i>	Гриб <i>Peronospora parasitica</i>	Н. д.	CC-NBS-LRR	Botella et al., 1998
	RPP8/HRT		Гриб <i>Peronospora parasitica</i> , вирус морщинистости турнепса	Н. д.		Cooley et al., 2000
	RPS2	<i>Arabidopsis</i>	Бактерия <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	avrRpt2		Mindrinos et al., 1994; Caicedo et al., 1999
	RPM1		Бактерия <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	avrRpm1, avrB		Grant et al., 1995
	Gpa2/Rxl	Картофель	Нематода <i>Globodera pallida</i> , вирус картофеля X	Н. д.		Williamson, 1999; Van der Voort et al., 1999
	Mi-1. 2	Томат	Нематода <i>Meloidogyne incognita</i> , тля <i>Macrosiphum euphorbiae</i>	Н. д.		Milligan et al., 1998; Williamson, 1999
	Mla1	Ячмень	Гриб <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>hordei</i>	AvrMla1		Zhou et al., 2001
	Mla6			AvrMla6		Halterman et al., 2001
	Xal	Рис	Бактерия <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	avrXal	NBS-LRR	Yoshimura et al., 1998
	RP1-D	Кукуруза	Гриб <i>Puccinia sorghi</i>	Н. д.		Collins et al., 1999
	I2	Томат	Гриб <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> paca 2	Н. д.		Oriet al., 1997; Simons et al., 1998
3	Pto	Томат	Бактерия <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	avrPto	PK	Loh, Martin, 1995
	LhirPto	<i>Lycopersicon hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>				Riely, Martin, 2001
4	RPW8. 1, RPW8. 2	<i>Arabidopsis</i>	Грибы <i>Erysiphe cichoracearum</i> , <i>E. crusiferarum</i> , <i>E. orontii</i> и <i>Oidium lycopersici</i>	Н. д.	CC-TM	Xiao et al., 2001
5	**Hs1 ^{pro-1}	Свекла	Нематода <i>Heterodera schachtii</i>	Н. д.	?	Cai et al., 1997; Williamson, 1999; Hulbert et al., 2001
6	Cf-2, Cf-4, Cf-5, Cf-9	Томат	Гриб <i>Cladosporium fulvum</i>	Avr2, Avr4, Avr5, Avr9	LRR-TM	De Wit, Joosten, 1999
7	Xa-21	Рис	Бактерия <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Н. д.	LRR-TM-PK	Song et al., 1995

Примечание. Н. д. - Нет данных.

* Эти гены не участвуют во взаимодействии ген-на-ген.

** Этот ген кодирует уникальный белок, возможно, содержащий регион LRR.

индукция генов защиты растений (Brosch et al., 1995).

Большинство генотипов кукурузы обладает устойчивостью к *C. carbonum* раса 1. Полную устойчивость обеспечивает ген *Hm1*, ген *Hm2* обеспечивает частичную устойчивость взрослых растений (Multani et al., 1998). Клонирование *Hm1* выявило, что он кодирует НАДФ-Н-зависимую НС-токсинредуктазу, которая инактивирует токсин (Johal, Briggs, 1992). Вероятно, аналогичными свойствами обладает ген *Hm2*, который является дубликацией гена *Hm1* (Multani et al., 1998).

У ряда восприимчивых линий кукурузы нарушение функции этих генов обусловлено вставкой в экзон 4 гена *Hm1*, которая имеет характеристики транспозирующего элемента (эта вставка названа "*Drone*"), и делецией обширной области на 3'-конце гена *Hm2*. Однако другие восприимчивые линии кукурузы не выявляют ни присутствия *Drone*, ни делеции, и молекулярная природа нарушения функций *Hm*-генов у них остается неизвестной (Multani et al., 1998).

Класс 2. Гены устойчивости, кодирующие белки с сайтом связывания нуклеотидов и регионом обогащенных лейцином повторов (NBS-LRR)

Гены устойчивости, кодирующие белки с сайтом связывания нуклеотидов (NBS) и регионом обогащенных лейцином повторов (LRR) (рис. 1, б), являются наиболее многочисленными среди клонированных к настоящему времени генов устойчивости растений.

Сайты связывания нуклеотидов (NBS) присутствуют в АТФ- и ГТФ-связывающих белках и найдены у членов многих белковых семейств (Traut, 1994; Hamm, Gilchrist, 1996). Домены NBS белков – продуктов генов устойчивости растений характеризуются несколькими высоко консервативными аминокислотными мотивами, включая связывающую фосфат петлю (Р-петлю) и киназные сайты (Meyers et al., 1999; Holub, 2001).

В сторону карбоксильного конца по отношению к сайту связывания нуклеотидов белки R этого класса имеют область обогащенных лейцином повторов (LRR). Этот домен состоит из неполных повторов, содержащих 23 или 24 аминокислоты, порядок расположения которых выявляет хорошее соответствие консенсусу цитоплазматического LRR (Jones D., Jones J., 1996; Hammond-Kosack, Jones J., 1997). Фактическое число повторов варьирует как между разными генами устойчивости, так и между членами одного генного семейства, и в типичном случае составляет от 10 до 40 (Holub, 2001).

Класс NBS-LRR можно разделить на два подкласса в зависимости от структурной особенности NH₂-терминальной области белков (рис. 1, б). Многие члены NBS-LRR класса генов устойчивости кодируют аминотерминальные домены с гомоло-

гией цитоплазматическим областям рецепторного белка Toll *Drosophila* и рецептора интерлейкина-1 млекопитающих. Этот домен белков R был обозначен как TIR (Baker et al., 1997; Meyers et al., 1999; Dangl, Jones J., 2001).

До сравнительно недавнего времени важной структурной особенностью членов второго подкласса NBS-LRR генов считали наличие на аминотерминальном конце белка лейциновой застезки (leucine zipper) (Hammond-Kosack, Jones J., 1997). Однако оказалось, что для большинства членов данного подкласса характерным является формирование на аминном конце суперспиральной структуры (CC) (Pan et al., 2000a), которая представляет собой содержащие от двух до пяти спиралей узлы, имеющие специфическую упаковку аминокислот на поверхности раздела спираль-спираль (Lupas, 1997). Лейциновые застезки – частный случай этого общего структурного элемента (Young, 2000; Hulbert et al., 2001). Вероятно, группа CC-NB-LRR-генов состоит из множества субсемейств, варьирующих по размеру и локализации суперспирального домена (Dangl, Jones J., 2001). Ряд генов этого же подкласса кодируют белки, не имеющие определенного домена на аминотерминальном конце. Во всяком случае для них не сообщается о какой-либо гомологии последовательности NH₂-окончания белка, и Голуб (Holub, 2001) определяет их как NBS-LRR-белки, не имеющие третьего домена.

Пэн с соавт. (Pan et al., 2000a) эти два подкласса NBS-LRR-генов называют соответственно "Группа I" и "Группа II", а Мейерс с соавт. (Meyers et al., 1999), Янг (Young, 2000) и Голуб (Holub, 2001) – как "TIR" и "не-TIR" NBS-LRR-гены.

Подкласс TIR-NBS-LRR у *Arabidopsis* составляет около 60% всех генов устойчивости NBS-LRR-класса (Dangl, Jones J., 2001). Имеется он также по крайней мере у одного голосемянного растения (*Pinus*) (Meyers et al., 1999). Однако данный подкласс генов устойчивости пока не был выявлен у злаков (Ellis et al., 2000; Pan et al., 2000a). Ожидаемое секвенирование генома риса покажет, действительно ли у злаков нет подкласса TIR-NBS-LRR (Jones J., 2001). Если это подтвердится, то остается неизвестным, является ли отсутствие TIR-подкласса особенностью всех однодольных или только Poaceae.

Важной особенностью экспрессии генов R, кодирующих белки с доменами TIR-NBS-LRR, является тот факт, что по крайней мере некоторые из них дают начало более чем одному транскрипту посредством альтернативного сплайсинга. Так, контролирующий устойчивость к вирусу табачной мозаики ген *N* табака дает начало двум транскриптам, а аллель *L6* мультиаллельного локуса льна *L* дает начало четырем мРНК (Lawrence et al., 1995; Ellis et al., 1997; Aylliffe et al., 1999; Dinesh-Ku-

mar, Baker, 2000). Функция разных транскриптов и их вероятных белковых продуктов до сих пор остается неизвестной, но изучение молекулярных особенностей экспрессии гена табака *N* показало, что надлежащий сплайсинг и необходимое соотношение транскриптов в течение патологического процесса играют ключевую роль в устойчивости (Dinesh-Kumar, Baker, 2000).

Заслуживают также упоминания NBS-LRR-гены, обуславливающие двойную специфику распознавания. Например, ген *RPMI Arabidopsis* обеспечивает устойчивость к штаммам *P. syringae* pv. *maculicola*, которые экспрессируют любой из двух негомологичных *Avr*-генов, *avrB* или *avrRpm1* (Grant et al., 1995). Интересно отметить, что у сои распознавание этих же двух продуктов неродственных генов *Avr* включает или две различные аллели одного гена устойчивости, или два тесно связанных *R*-гена (Ashfield et al., 1995). Продукт гена *Mi-1.2* томата обуславливает эффективную устойчивость одновременно к галловой нематоды *Meloidogyne incognita* и картофельной тле *Macrosiphum euphorbiae* (Williamson, 1999).

Имеются случаи распознавания фитопатогенных организмов из достаточно далеких таксономических групп тесно связанными генами одного кластеризованного семейства. Так, ген картофеля *Cpa2*, обуславливающий устойчивость к некоторым изолятам цистовой картофельной нематоды *Globodera pallida*, физически очень тесно связан с геном *Rx1*, который обуславливает устойчивость к вирусу картофеля X (Milliamson, 1999). Белки *Gpa2* и *Rx1* высокоподобны по аминокислотной последовательности (Van der Voort et al., 1999). В состав локуса *RPP8 Arabidopsis*, обуславливающего устойчивость к грибу *Peronospora parasitica*, входит ген *HRT*, который определяет устойчивость к вирусу морщинистости турнепса (Cooleya et al., 2000).

Класс 3. Гены устойчивости, кодирующие внутриклеточные серин/треонинспецифические протеинкиназы

К этому классу относится ген *Pto* томата, который обуславливает устойчивость к штаммам фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, экспрессирующим ген *avrPto* (Martin et al., 1993). *Pto* кодирует серин/треонинспецифическую протеинкиназу, способную к автофосфорилированию (Loh, Martin, 1995) (рис. 1, в). Белок *Pto* относится к тому же классу протеинкиназ, что и цитоплазматический домен продукта гена самонесовместимости *SRK* у *Brassica*, фактор передачи сигналов млекопитающих *Raf*, киназа *pelle Drosophila* и киназа *IRAK* человека (Shelton, Wasserman, 1993; Braun, Walker, 1996; Cao et al., 1996; Stein et al., 1996; Hammond-Kosack, Jones, 1997).

Мутагенез *Pto*-содержащего томата выявил NBS-LRR-ген, *Prf*, который требуется для функционирования *Pto* (Salmeron et al., 1996). Ген *Prf* не определяет сам по себе устойчивость к какому-либо установленному патогену. Функциональные отношения между белками *Prf* и *Pto* неизвестны.

Недавно был клонирован еще один ген этого класса, *LhirPto*, из дикого вида томата *Lycopersicon hirsutum* var. *glabratum*, который также обуславливает *avrPto*-зависимую устойчивость к *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Этот ген имеет 97%-ную гомологию с *Pto* (Riely, Martin, 2001).

Класс 4. Гены устойчивости, кодирующие белки с суперспиральным и трансмембранным доменами (CC-TM)

Этот класс генов устойчивости растений был выявлен только в 2001 г., и в нем пока известен единственный локус *RPW8 Arabidopsis*, обуславливающий широкий спектр устойчивости к мучнистой росе (возбудители *Erysiphe cichoracearum*, *E. cruciferarum*, *E. orontii* и *Oidium lycopersici*) (Xiao et al., 1997, 2001). Этот локус содержит два доминантных гена, *RPW8.1* и *RPW8.2*, имеющих 50%-ную идентичность аминокислот. Каждый из них обуславливает широкий спектр устойчивости и кодирует небольшой, заякоренный в мембране белок с предполагаемыми суперспиральным и трансмембранным доменами и отсутствующей гомологией к другим известным белкам (Xiao et al., 2001; Jones J., 2001) (рис. 1, г).

Класс 5. Ген свеклы *HsI^{pro-1}*

Ген *HsI^{pro-1}* обуславливает устойчивость свеклы к цистовой нематоды *Heterodera schachtii* (Cai et al., 1997). Как считали первоначально, этот ген кодирует белок с трансмембранным доменом и внеклеточным регионом, включающим обогащенные лейцином повторы, хотя и очень необычные по составу аминокислот. Однако дальнейший анализ поставил под сомнение такой вывод, и этот ген предлагается рассматривать как первый член нового класса генов *R*, кодирующий цитоплазматические белки (рис. 1, д) (Ellis, Jones D., 1998; Hulbert et al., 2001).

Класс 6. Гены устойчивости, кодирующие белки с регионом обогащенных лейцином повторов и трансмембранным доменом (LRR-TM)

К этому классу принадлежат гены томата *Cf*, обуславливающие устойчивость к фитопатогенному грибу *Cladosporium fulvum*. Все гены *Cf* организованы в два несвязанных мультигенных локуса, *Cf-4/Cf-9* и *Cf-2/Cf-5* (Hammond-Kosack, Jones J., 1996). Кодируемые белки содержат регионы внеклеточных обогащенных лейцином повторов со средней длиной 24 аминокислоты, которые выявляют хорошее соответствие внецитоплазматическому LRR-консенсусу, и трансмембранные домены (Jones D., Jones J., 1996; Hammond-Kosack, Jones J., 1997) (рис. 1, е).

Класс 7. Гены устойчивости, кодирующие белки с регионом обогащенных лейцином повторов, трансмембранным и протеинкиназным доменами (LRR-TM-PK)

Единственным известным к настоящему времени геном устойчивости в этом классе является ген риса *Xa21*, обуславливающий устойчивость к штаммам бактерии *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Xa21* кодирует белок, имеющий внецитоплазматические LRR, трансмембранный регион и внутриклеточный домен серин/треонинспецифической протеинкиназы (Song et al., 1995) (рис. 1, ж).

Xa21 является членом мультигенного семейства, в состав которого входит еще один функциональный ген устойчивости, *Xa21D*. В отличие от гена *Xa21* ген *Xa21D* обуславливает только частичную устойчивость к *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Нуклеотидная последовательность *Xa21D* отличается тем, что содержит вставку ретротранспозона, который вводит в последовательность *Xa21D* преждевременный терминирующий кодон сразу после области кодирования домена LRR; в результате этот ген кодирует усеченный белок, имеющий сигнальный пептид и домен LRR, но лишенный трансмембранного и киназного доменов (Song et al., 1997). Вполне вероятно, что белок *Xa21D* является внеклеточным (Wang et al., 1998). Несмотря на то что белок *Xa21D* имеет достаточно уникальное строение среди белков – продуктов генов устойчивости, вероятно, его все-таки следует рассматривать как видоизмененного члена класса LRR-TM-PR, а не как представителя нового класса белков – продуктов генов устойчивости, что предлагают делать Вэнг с соавт. (Wang et al., 1998).

Интересно отметить, что был клонирован *Xa1*, второй ген устойчивости риса к штаммам *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, и в отличие от *Xa21* найдено, что он кодирует NBS-LRR (цитоплазматический) белок (Yoshimura et al., 1998). Таким образом, чтобы распознавать один и тот же вид патогена (но продукты различных генов *Avr*), в рисе используются два неродственных класса R-белков.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ R

Поскольку гены *R* и *Avr* чаще всего являются доминантными, то самая простая молекулярная интерпретация взаимодействия ген-на-ген состоит в том, что продукт гена *R* связывается с продуктом комплементарного гена *Avr* как рецептор с лигандом и далее индуцирует каскад сигналов, приводящий к активации защитного отклика (Ji et al., 1998). Такая точка зрения была распространена до недавнего времени, однако накапливающиеся данные показывают, что белки *R* могут являться первичными рецепторами для белков *Avr*

только в некоторых патосистемах; для других случаев установлено отсутствие прямого взаимодействия *R-Avr*.

Непосредственное физическое взаимодействие было показано для белков *Pto* и *LhirPto* и комплементарного *Avr*-детерминанта *avrPto* (Schofield et al., 1996; Tang et al., 1996; Riely, Martin, 2001), а также для продуктов гена устойчивости риса к пирикулярриозу *Pi-ta* и комплементарного гена авирулентности *Avr-Pita* гриба *Magnaporthe grisea* (= *Piricularia oryzae*) (Martin, 1999).

В то же время имеются убедительные данные, показывающие отсутствие непосредственного взаимодействия продуктов генов *R* и *Avr*. Исследование линий томата, устойчивых и восприимчивых к экспрессирующему ген *Avr9* штамму гриба *Cladosporium fulvum*, выявило сайт связывания с высоким сродством для пептида *Avr9* в плазматической мембране клеток растений независимо от наличия или отсутствия гена *Cf-9* (Kooman-Gersmann et al., 1996). Отсутствие непосредственного взаимодействия белка *Cf-9* с *Avr9* было подтверждено в недавней работе (Luderer et al., 2001). Таким образом, белок *Cf-9* не является первичным рецептором для белка *Avr9*, и, вероятно, по крайней мере три белковые молекулы необходимы для индукции, обусловленной геном *Cf-9* устойчивости (De Wit, Joosten, 1999). Это предположение недавно получило экспериментальное подтверждение: с использованием трансгенных растений табака (в этом растении ген *Cf-9* функциональный и вызывает *Avr9*-зависимую реакцию устойчивости) было определено, что белок *Cf-9* функционирует в гетеромультимерном ассоциированном с мембраной комплексе (Rivasa et al., 2002). Таким образом, продукты генов устойчивости, по всей видимости, действуют в белковых комплексах, и именно комплексы являются полноценными рецепторами (Dangl, Jones J., 2001). Концептуальную основу действия таких комплексов представляет “гипотеза стража” (guard hypothesis), в соответствии с которой белки *R* физически ассоциированы в клетках растений с белками-мишенями для *Avr*-белков фитопатогенных организмов, являющихся эффекторами болезни (Dangl, Jones J., 2001; Renier et al., 2002). Когда белок *Avr* на поверхности или внутри клетки устойчивого растения-хозяина, имеющего соответствующий ген *R*, взаимодействует с мишенью, образующийся комплекс распознается белком *R*, который активирует реакции устойчивости. При этом может резко возрастать сродство комплекса белок растения/белок *Avr* к белку *R* (рис. 2, а). В рамках данной модели возможен и другой сценарий – белок *R* может быть связан с некоторым белком/белками растения конститутивно, но высвобождается при присоединении белка *Avr*, что приводит к его активации и к последующей индукции защитных реакций (рис. 2, б) (Dangl, Jones J., 2001). Пока еще

нет убедительных данных, позволяющих определить, какая из этих возможностей является более вероятной.

Хотя “гипотеза стража” не имеет прямых экспериментальных доказательств, она позволяет объяснить некоторые факты, например отсутствие прямого взаимодействия белков Cf-9 и Avr9 (белок Cf-9 является “стражем” белка-мишени для продуцируемого патогеном пептида Avr9) или необходимость в продукте гена *Prf* для функционирования белка Pto (белок Prf является “стражем” протеинкиназы Pto, которую атакует продукт фитопатогенной бактерии белок avrPto).

В любом случае, поскольку белки R играют роль рецепторов, распознающих специфических белковых партнеров (независимо от того, это Avr-белки, или это белки растения, или комплекс белка(ов) растения с белком Avr), экспрессия генов *R* должна происходить до заражения фитопатогенным организмом, так как они должны быть заранее готовы обнаружить атаку. Кроме того, нет никаких априорных причин для того, чтобы экспрессия генов устойчивости возрастала после заражения растения фитопатогенным организмом. Эти предположения были подтверждены для гена льна *L6* (Ellis et al., 1997), гена *N* табака (Dinesh-Kumar, Baker, 2000), транскриптов генов сложного локуса *Rpl-D* кукурузы (Collins et al., 1999) и для гена риса *Pi-ta* (Bryan et al., 2000). Исключением является ген риса *Xal* (обуславливающий устойчивость к штаммам бактерий *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, экспрессирующим ген *AvrXal*). В отличие от конститутивной экспрессии других генов устойчивости растений экспрессия данного гена индуцируется заражением бактериями (Yoshimura et al., 1998).

После распознавания белок R, вероятно, прямо или косвенно запускает каскад(ы) сигналов, которые инициируют защитные реакции растения. При индукции устойчивости происходит целый ряд биохимических и молекулярных событий, включающих, в частности, поток ионов кальция, образование реактивных форм кислорода и оксида азота (“окислительная вспышка”), активацию каскадов митогенактивируемых протеинкиназ, перепрограммирование транскрипции - активацию “генов защиты”, которые обеспечивают биосинтез салициловой кислоты, активацию фенилпропаноидного пути биосинтеза фенолов, лигнификацию и укрепление клеточной стенки, образование антимикробных соединений, синтез ингибиторов гидролитических ферментов микроорганизмов и других так называемых связанных с патогенезом белков (Jones J., 1996; Jabs et al., 1997; Ligterink et al., 1997; Piedras et al., 1998; Felix et al., 1999; Romeis et al., 1999; Dangl, Jones J., 2001). Очень часто заключительным событием защитного отклика является быстрая гибель инфицированных клеток, называ-

емая реакцией сверхчувствительности (Lam et al., 2001). Однако нужно отметить, что устойчивость не всегда связана со сверхчувствительной гибелью клеток растений, и до сих пор остается неясным, является ли реакция сверхчувствительности программным закономерным исходом или только лишь случайным неудачным следствием защитных реакций (Jones J., 1996).

Обусловленная генами *R* устойчивость накладывается на биохимические пути основной (базовой) устойчивости растений. Базовая устойчивость в той или иной степени ограничивает рост патогена после успешного заражения в отсутствие генов устойчивости и не допускает быстрой гибели зараженного восприимчивого растения. Существование базовой устойчивости доказывается наличием мутантов, которые имеют более восприимчивый к вирулентному патогену фенотип, чем родительские формы (Glazebrook et al., 1997; Glazebrook, 2001; Dangl, Jones J., 2001). Генетический анализ этих мутантов позволил определить некоторые генетические локусы, необходимые для базовой защиты (Glazebrook et al., 1997; Glazebrook, 2001). Поскольку ряд таких локусов необходим и для функции отдельных генов *R*, то представляется вероятным, что системы базовой и специфической защиты могут перекрываться (Dangl, Jones J., 2001). Пока остается неясным, какие именно из защитных реакций обусловлены геном *R*, а какие свойственны базовой устойчивости. Возможно, что одной из функций (или даже основной функцией) генов устойчивости является более быстрая и эффективная активация механизмов защиты, играющих роль и в базовой устойчивости (Dangl, Jones J., 2001).

Таким образом, домены белков - продуктов генов устойчивости должны обеспечивать специфическое распознавание тех или иных детерминантов и начальные этапы генерации сигнала, запускающего защитный ответ. Своеобразие генов *R* растений состоит в полифункциональности доменов их белковых продуктов - невозможно сделать обобщение относительно специфической функции для каждого в отдельности из доменов белков - продуктов генов устойчивости растений (Hulbert et al., 2001).

Специфическое распознавание

В белках - продуктах генов устойчивости, имеющих домен обогащенных лейцином повторов (LRR), именно он, как полагают, играет важную роль в распознавании. В пользу этого свидетельствует тот факт, что домен LRR функционирует как сайт взаимодействия белок-белок, связывания пептид-лиганд и взаимодействия белок-углевод у разнообразных белков (Suzuki et al., 1990; Kobe, Deisenhofer, 1994; Jones D., Jones J., 1996; Kajava, 1998).

Домен LRR важен для функции R-белков растений. Так, некоторые аллели генов *RPS2* и *RPM1* с заменами отдельных аминокислот в домене LRR больше не обеспечивают устойчивость (Mindrinos et al., 1994; Grant et al., 1995). В нескольких случаях показано, что вариация аминокислот в LRR непосредственно коррелирует с новой специфичностью распознавания (Thomas et al., 1998; Ellis et al., 1999). Замена аланина на серин в положении 918 в регионе LRR белка риса Pi-ta (обогащенный лейцином регион этого белка имеет особую структуру повторов) приводит к потере устойчивости (Bryan et al., 2000).

Важные результаты для понимания специфичности генов *R* были получены при анализе аллелей гена *L* льна (Ellis et al., 1999). Так, белки *L6* и *L11*, которые являются идентичными в регионах TIR и NBS, различаются 33 аминокислотами в LRR. Это указывает на то, что различия между спецификами устойчивости *L6* и *L11* вызваны различиями именно в областях LRR (Ellis et al., 1997). Обмены между аллелями *in vitro* и анализ трансгенных растений также указывают на важность вариации LRR в различиях специфики. Исследование химерных генов *L2/L10* показало, что гибрид, содержащий аминотерминальную область гена *L2* и карбокситерминальные LRR гена *L10*, имеет *L10*-специфику. Аналогично трансгенное растение, содержащее аминотерминальную половину гена *L10* и карбокситерминальные LRR гена *L2*, имеет *L2*-специфику распознавания детерминантов авирулентности патогена (Ellis et al., 1997).

Детальный сравнительный анализ белков Cf-4 и Cf-9 позволил выявить аминокислоты, ответственные за специфику распознавания. Специфичность белка Cf-9 полностью зависит от аминокислот, которые содержатся в регионе домена обогащенных лейцином повторов, охватывающем от 10-го до 18-го LRR. Специфичность Cf-4 определяется аминокислотными остатками, расположенными в регионе домена обогащенных лейцином повторов, охватывающем от 11-го до 14-го LRR и в 16-м LRR, а также во фланкирующем LRR-домен регионе (Van der Hoorn et al., 2001; Wulff et al., 2001).

Однако в LRR-содержащих белках *R* специфика распознавания зависит и от других доменов. Так, аллели *L6* и *L7* льна различаются только по кодирующим последовательностям аминотерминального региона TIR. Таким образом, полиморфизм в этой области, а также в других аминотерминальных последовательностях белка тоже воздействует на специфичность устойчивости (Ellis et al., 1999).

Белок Pto томата вообще не имеет региона LRR. Тем не менее, как показано, он связывается с продуктом гена *avrPto Pseudomonas syringae* непосредственно (Scofield et al., 1996; Tang et al., 1996).

Индукция каскада сигналов

У белков NBS-LRR-класса в инициирование сигналов вовлечены, наиболее вероятно, сайт связывания нуклеотида и/или домен TIR (в TIR-подклассе). Присутствие сайта связывания нуклеотидов (NBS), который найден в многочисленных белках, связывающих АТФ и ГТФ (Traut, 1994), наводит на мысль, что, хотя белки *R* не обладают активностью протеинкиназы, они могут активировать другие киназы или G-белки, хотя пока нет биохимических доказательств того, что NBS в белках *R* растений действительно связывает АТФ или ГТФ и остается неясным, как и какой из этих нуклеотидов связывается (Hammond-Kosack, Jones J., 1997; Dangl, Jones J., 2001). Мутагенез аминокислот, для которых известно, что они требуются для связывания нуклеотида, нарушает функцию белков *R* (Salmeron et al., 1996).

Весьма интригующим оказался факт, что сайт связывания нуклеотидов R-белков растений имеет наибольшее подобие доменам NBS эффекторов гибели клетки белков CED-4 нематод и Araf-1 млекопитающих, которые активируют вовлеченные в апоптоз протеазы CED-3 и caspase-9 соответственно (Chinnaiyan et al., 1997; Li et al., 1997; Van der Biezen, Jones J., 1998). Подчеркивая эту гомологию, домен NBS белков растений часто называют доменом NB-ARC (чтобы выдвинуть на первый план разделяемые подобия этой области с человеческим Araf-1, R-белками растений и белками CED-4 нематод) (Van der Biezen, Jones J., 1998; Ellis et al., 2002; Dangl, Jones J., 2001). Одной общей, хотя и не строго универсальной, особенностью функции NBS-LRR-белков растений является сверхчувствительная гибель клетки в участке заражения в течение реакций устойчивости. Функциональное подобие между этим ответом и апоптозом животных (Lam et al., 2001) и структурное подобие доменов NBS у R-белков растений и белков CED-4 и Araf-1 поражает.

Поразительным является также структурное подобие между внутриклеточными NBS-LRR-белками растений и внутриклеточными NBS-LRR-белками млекопитающих (белками Nod). В геноме человека имеется около 30 генов *Nod*, продукты которых, вероятно, играют роль во врожденном иммунитете как внутриклеточные рецепторы, обуславливающие распознавание консервативных лигандов микробных патогенов типа липополисахаридов бактерий (Inohara et al., 2001; Ogura et al., 2001). Белки Nod опосредованно активируют фактор транскрипции NF-κB.

Помимо белков Nod системы врожденного иммунитета животных используют содержащие внеклеточные домены обогащенных лейцином повторов рецепторы, называемые Toll-подобными рецепторами или TLR (Toll-like receptors). Гомология домена TIR белков - продуктов генов ус-

тойчивости растений TIR-NBS-LRR-подкласса компонентам сигнальных путей Toll *Drosophila* и IL-1R (рецептора интерлейкина-1) млекопитающих позволяет предположить и подобие механизмов путей передачи сигнала. Рецепторы врожденной иммунной реакции млекопитающих и *Drosophila* сопряжены с внутренними сигналами гибели клетки, киназным каскадом и массивом эффекторов, которые активируются на уровне транскрипции (Lemaitre et al., 1996; Williams et al., 1997; Medzhitov et al., 1997; Rock et al., 1998; Aderem, Ulevitch, 2000; Medzhitov, Janeway, 2000). В геноме человека содержится около 15-20 генов *TLR* (Dangl, Jones J., 2001).

Белки TLR животных опосредованно активируют факторы транскрипции суперсемейства *rel/NF-κB* и нуждаются в протеинкиназах *pelle* у *Drosophila* и IRAK у человека, которые имеют высокую гомологию киназе Pto томата (Hashimoto et al., 1988; Wasserman, 1993; Galindo et al., 1995; Morisato, Anderson, 1995; O'Neill, 1995; Hammond-Kosack, Jones J., 1997; O'Neill, Greene, 1998; Medzhitov, Janeway, 2000). С учетом гомологии последовательностей и родственных функций этих белков насекомого, позвоночного животного и растения можно предположить, что продукты членов TIR-подкласса генов устойчивости растений могут функционировать аналогичным образом.

Однако, несмотря на структурные подобию между TIR-белками и TLR, а также между Pto и киназами IRAK и *pelle*, сколько-нибудь прямые доказательства сходства путей передачи сигналов пока отсутствуют. Поиски в базах данных экспрессирующихся последовательностей растений не выявили гены с подобием генам животных, кодирующим компоненты нисходящего потока передачи сигнала TLR (Martin, 1999). Возможно, роль таких эффекторов могут выполнять белки, кодируемые выявленными у *Arabidopsis* усеченными генами, кодирующими только домены NBS-CC и NBS-TIR (Meyers et al., 1999; Dangl, Jones J., 2001; Jones J., 2001). Кроме этого, подобными эффекторами нисходящего пути передачи сигналов могут быть упомянутые выше усеченные продукты TIR-NBS-LRR-генов (например, генов *N* и *L*), которые являются результатом альтернативного сплайсинга. Также возможно, что домены TIR и NBS белков R растений могут выполнять новые функции, детали которых пока неизвестны.

В передаче сигналов устойчивости принимает участие и домен LRR. Сильное доказательство этому было получено в исследованиях гена *RPS5 Arabidopsis*, в котором мутация в третьем LRR подавляла устойчивость к разным патогенам, обусловленную многими генами *R* (Warren et al., 1998). На основе этих результатов было предположено, что мутация в регионе LRR может влиять на компонен-

ты метаболических путей, общих для многих генов устойчивости, и таким образом интерферировать с важными шагами передачи сигналов. Любопытно, что мутация в другом карбокситерминальном LRR этого же белка специфически изменяет распознавание белка AvrPphB, но не устойчивость, обусловленную другими генами *R* (Warren et al., 1998). Таким образом, домен LRR белка RPS5, по-видимому, функционирует как в распознавании, так и в передаче сигналов, подобно протеинкиназному домену Pto.

Поскольку Pto и Xa21 являются протеинкиназами (Sessa et al., 1998), то очевидна их роль в инициации сигнала через фосфорилирование белков. По крайней мере киназная активность Pto, по-видимому, требуется для ее роли в болезнеустойчивости. Поскольку Pto высокоомологична киназам *pelle Drosophila* и IRAK человека, необходимым для обусловленной белками TLR передачи сигналов (см. выше), то киназа Pto может выполнять подобную функцию, т. е. активировать фактор(ы) транскрипции.

С использованием дрожжей было выявлено, что Pto взаимодействует с несколькими белками растений, названными Pti (Pto interacting); и белки Ptil (серин/треонинспецифическая протеинкиназа), а также Pti4, -5 и -6 определены как субстраты фосфорилирования для Pto (Zhou et al., 1995; Ji et al., 1998). Показано, что Ptil участвует в развитии реакции сверхчувствительности (Zhou et al., 1995). Продукт гена *Ptil* может фосфорилироваться Pto и способен к автофосфорилированию, но не может фосфорилировать Pto. Поэтому протеинкиназный каскад, инициированный фосфорилированием Ptil киназой Pto, может быть одним из нисходящих потоков сигнального пути. Как ни странно, но белок Ptil не взаимодействует с белками Pti4, -5 и -6; возможно, Pto может активировать одновременно несколько разных путей передачи сигналов (Ji et al., 1998).

Белки Pti4, -5 и -6, по всей видимости, являются факторами транскрипции и связывают GCC-бокс цис-элемента, который присутствует в промоторе многих генов, активируемых при патогенезе, повреждении, в ответ на обработку этиленом, жасмоновой и салициловой кислотами (Martin, 1999). Таким образом, эти белки являются первым примером возможной прямой связи между геном *R* и экспрессией связанных с защитой генов.

Следует учесть, что Pto для функционирования нуждается в NBS-LRR-белке Prf (см. выше). Роль этого белка в индукции сигнального каскада пока неизвестна.

Прямое доказательство роли киназного домена в индукции сигнала защиты было получено в недавно выполненной работе по обмену доменами белков риса Xa21 и BRI1, трансмембранной LRR-киназой, которая необходима для восприя-

тия brassinостероидов (He et al., 2000). В этой работе был сконструирован химерный ген, в котором домен обогащенных лейцином повторов белка BRI1 был слит с протеинкиназным доменом Xa21. В случае функционального химерного гена обработка brassinостероидом активировала защитные реакции.

Для белков томата Cf в отсутствии очевидных сигнальных доменов молекулярные партнеры передачи сигналов остаются неизвестными. Как было отмечено выше, вероятно, что по меньшей мере три молекулы белка необходимы для Cf-обусловленной рецепции Avr-детерминантов и индукции потока сигналов (De Wit, Joosten, 1999; Rivasa et al., 2002), аналогично трехкомпонентному рецепторному комплексу, кодируемому семейством генов *CLAVATA*, регулирующему развитию *Arabidopsis* (Clark et al., 1995, 1997; Becraft, 1998).

Домены с неизвестной функцией

Суперспиральные домены, вероятно, облегчают гомо- или гетеродимеризацию белков R, хотя на такую роль этих доменов нет никаких экспериментальных указаний. Кроме того, у белков локуса *RPW8 Arabidopsis* (RPW8.1 и RPW8.2), которые содержат фактически только домен CC, он вполне успешно обеспечивает распознавание фактора авирулентности, общего для многих возбудителей мучнистой росы, и инициирует защитные реакции (Xiao et al., 2001). Альтернативно он может играть вспомогательную роль, облегчая функционирование других молекул, которые обуславливают распознавание и индукцию сигнального каскада. Пока особенности функционирования этих белков остаются довольно загадочными.

Гены устойчивости NBS-LRR-класса кодируют также консервативный гидрофобный домен между сайтом связывания нуклеотидов и регионом обогащенных лейцином повторов, функция которого неизвестна (Hammond-Kosack, Jones J., 1997).

ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ, МНОГООБРАЗИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Локусы генов устойчивости растений имеют различную геномную организацию. Они могут представлять собой единственный ген с множеством аллелей, каждый из которых обеспечивает различную специфику распознавания. Подобным образом организован локус *L* льна: только одна из 13 или большего числа *L*-специфик к *Melampsora lini* присутствует в отдельной линии (Pryor, Ellis, 1993).

Ген *R* может существовать как ген, который присутствует в устойчивых линиях, но отсутствует в восприимчивых. Так организованы гены *RPS2*

и *RPM1 Arabidopsis* (Hammond-Kosack, Jones J., 1997) и *Xal* риса (Yoshimura et al., 1998).

Однако у большинства генов устойчивости, локус *R* включает tandemные массивы близкородственных гомологов с различающимися спецификами распознавания или нефункциональных (Martin et al., 1993; Jones D. et al., 1994; Dixon et al., 1996; Song et al., 1995, 1997; Ori et al., 1997; Jia et al., 1997; Parniske et al., 1997). Например, локус льна *M*, обуславливающий 7 специфик устойчивости к биотипам возбудителя ржавчины *M. lini*, состоит по меньшей мере из 15 генов (Pryor, Ellis, 1993; Ellis et al., 1997). Как кластеризованные генные семейства организованы все гены томата *Cf* (De Wit, Joosten, 1999). Локус кукурузы *Rp1* с 14 спецификами распознавания возбудителя ржавчины *Puccinia sorghi* имеет аналогичную организацию (Hulbert, 1997). При клонировании функционального гена *Rp1-D* этого локуса были выявлены восемь нефункциональных гомологов (Collins et al., 1999). Локус томата *I2*, обуславливающий устойчивость к расе 2 почвенного гриба *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, имеет семь генов, из которых только один обеспечивает устойчивость (Simons et al., 1998).

Разные экотипы дикорастущих растений одного вида могут содержать разное число генов в гомологичных локусах генов устойчивости. Два полных гаплотипа (набора генов в сложном локусе) локуса *RPP5* (устойчивость к *Peronospora parasitica*), содержащего TIR-NBS-LRR-гены у *Arabidopsis*, недавно были полностью секвенированы и проанализированы (Noel et al., 1999). Девять генов найдены в устойчивом гаплотипе *Landsberg erecta* (Ler-0) и восемь генов найдены в восприимчивом (не имеющем функциональных генов *RPP5*) гаплотипе *Columbia* (Col-0). Только один ген в *Ler*, как предсказывается, кодирует полную длину гена *RPP5*. В гаплотипе Col-0 в этом локусе два гена могут кодировать белки, обуславливающие *RPP4*-специфику устойчивости (Bevan et al., 1998). Другие содержат преждевременные терминирующие кодоны, отсутствующие инициаторные кодоны или ретротранспозоновые вставки.

Ранее было проведено клонирование в этих же гаплотипах *Arabidopsis* локуса *RPP8* (также определяющего устойчивость к *Peronospora parasitica*) (McDowell et al., 1998). Гаплотип *RPP8* в устойчивом *Ler-0* содержит функциональный ген *RPP8-Ler* и нефункциональный гомолог, *RPH8A*. Напротив, *rpp8*-локус в восприимчивом Col-0 содержит единственный химерный ген, который, вероятно, является продуктом неравного кроссинговера между передковыми генами *RPP8-Ler* и *RPH8A*.

Приведенные примеры показывают наличие в локусах генов устойчивости массивов нефункциональных генов или генов с неизвестной функцией. Они могут обеспечивать средства поддержа-

ния благоприятных гаплотипов с множественными спецификами или могут служить резервом разнообразия последовательностей для генерации новых специфик распознавания при межгеномном обмене последовательностями. Нельзя также исключить, что по крайней мере некоторые из них являются полноценными генами *R*, обуславливающими устойчивость к невыявленным патогенам.

В отдельных областях генома гены устойчивости кластеризуются более свободно, располагаясь в пределах 1-2 сантимогранид друг от друга (Michelmore, 1995; Dixon et al., 1996). Такие “мега-кластеры” могут быть огромны, охватывать миллионы пар азотистых оснований и состоять из множества последовательностей *R*-генов. Например, у *Arabidopsis* имеется массив NBS-LRR-последовательностей на хромосоме IV, охватывающий 4.6 миллиона пар нуклеотидов; второй мегакластер на хромосоме V включает около 30 NBS-LRR-последовательностей в регионе 4.5 миллиона пар нуклеотидов (Bevan et al., 1998; Mayer et al., 1999; Young, 2000).

У салата имеется главный кластер генов устойчивости (major resistance gene cluster), который охватывает регион протяженностью по меньшей мере 3.5 миллиона пар нуклеотидов. В этом кластере выявлены примерно 32 последовательности, кодирующие NBS-LRR-белки, в том числе ген *Dm3* устойчивости к возбудителю ложной мучнистой росы грибу *Bremia lactucae* (Meyers et al., 1998a, b; Shen et al., 2002). Интервалы между последовательностями NBS-LRR в кластере составляют по меньшей мере 150 тыс. пар нуклеотидов, и в этих промежутках, вероятно, отсутствуют функциональные гены.

Полное секвенирование генома *Arabidopsis* позволило получить ответ на вопрос, сколько же генов устойчивости, в частности NBS-LRR-последовательностей, может содержаться у одного растения (The Arabidopsis..., 2000; Jones J., 2001; Dangl, Jones J., 2001). Было выявлено около 150 генов с гомологией NBS-LRR-классу генов *R*, неравномерно распределенных между хромосомами. Из них примерно 60% составляют TIR-NBS-LRR и 40% – CC-NBS-LRR. Из этих NBS-LRR-генов имеется 46 одиночных гомологов, 25 дуплетов, 7 локусов с тремя копиями, отдельные локусы с четырьмя, пятью, семью, восемью и девятью генами, а также сложный кластер *RPP7*, имеющий 14 копий (Jones J., 2001; Dangl, Jones J., 2001).

Среди NBS-LRR-генов были выявлены и неожиданные последовательности. Так, два гена кодируют помимо TIR-NBS-LRR еще и домен WRKY, а один TIR-NBS-LRR-ген помимо WRKY кодирует еще и киназный домен (Jones J., 2001; Dangl, Jones J., 2001). Домен WRKY, по-видимому, обуславливает способность белков связываться с

ДНК. Суперсемейство белков WRKY представляет специфические для растений факторы транскрипции, которые активируются (транскрипционно) в ходе некоторых реакций устойчивости к заболеваниям (Eulgem et al., 2000).

Кроме NBS-LRR-генов выявлено более 50 генов протеинкиназ с высокой гомологией *Pto*, около 30 генов, напоминающих гены *Cf* и кодирующих белки с внеклеточными LRR и короткими цитоплазматическими доменами, и 174 гомолога гена *Xa21*, кодирующих рецепторподобные протеинкиназы с внеклеточными LRR (Jones J., 2001; Dangl, Jones J., 2001). Имеется также более чем 30 генов, содержащих только домены TIR или домены TIR, связанные с доменами с неизвестной функцией (Fluhr, 2001).

Сколько генов из всего этого массива являются генами устойчивости, пока неизвестно. Следует также учесть, что был секвенирован геном только одного экотипа *Arabidopsis* (Columbia). В то же время известно, что ряд генов устойчивости может присутствовать в одних экотипах и отсутствовать в других, а число генов в сложных локусах также различается между экотипами (Dangl, Jones, 2001).

Происхождение генов устойчивости растений

Вполне вероятно, что гены устойчивости растений разных классов имеют различное происхождение.

В рамках исследования возможного эволюционного происхождения генов *Hm1* и *Hm2* кукурузы Малтани с соавт. (Multani et al., 1998) проверили, имеется ли *Hm*-кодируемая устойчивость исключительно у кукурузы или ею обладают и другие виды растений. Поразительно, но участки ДНК с высокой степенью гомологии к гену *Hm1* кукурузы были найдены у всех проанализированных растений, в частности у риса, пшеницы, ячменя, овса, сорго. Предсказанные генные продукты риса и ячменя имеют более чем 70%-ную гомологию продукту гена *Hm1* кукурузы по аминокислотному составу (Multani et al., 1998). Такая высокая консервативность последовательности позволяет предположить выполнение одной и той же функции. Авторы высказали предположение, что ген *Hm* является древним геном устойчивости однодольных растений, который определяет устойчивость к грибам, выделяющим HC-токсин или родственные ему циклические тетрапептидные токсины.

Имеющиеся данные наводят на мысль, что наиболее вероятные предки, по крайней мере некоторых классов *R*-генов, кодировали необходимые для нормального роста или развития растений белки, участвующие в эндогенных системах распознавания и/или передаче сигналов. В пользу такого

предположения говорит то, что значительное число белков млекопитающих, дрожжей и насекомых, родственных R-белкам растений, управляет эндогенной передачей сигналов, развитием и/или клеточной адгезией (Hammond-Kosack, Jones J., 1997).

Ряд белков растений, подобных R-белку риса Ха21, также имеют структуру LRR-TM-PK. Они кодируются генами *ERECTA* и *CLAVATA* у *Arabidopsis*, *SERK* у моркови и геном *BR11* у *Arabidopsis*, кодирующим рецептор брассиностероидов. Эти белки определяют форму и размер растительных органов (Torii et al., 1996; Hammond-Kosack, Jones J., 1997; Schmidt et al., 1997). Белки *ERECTA* и *CLAVATA*, как полагают, участвуют в межклеточной связи с участием внеклеточного лиганда. Возможно, что Ха21 был “мобилизован” рисом для обнаружения патогенов (Ellis, Jones D., 1998).

Домены LRR, TIR и NBS являются общими для животных и растений “строительными блоками” белков, которые задействованы во врожденной иммунной реакции на этапе распознавания детерминантов патогена и инициирования защитного отклика (Fluhr, 2001). С учетом этого, а также упомянутой выше структурной гомологии между NBS-LRR-классом R-белков и NBS-LRR-белками Nod млекопитающих, участия белков TLR животных в защитных реакциях и функционального подобия между апоптозом животных и реакцией сверхчувствительности растений, можно предположить, что гены *R* растений (NBS-LRR-класса) и гены, вовлеченные в иммунитет животных, имеют общее эволюционное происхождение в очень древнем механизме защиты (Jones D., Jones J., 1996; Taylor, 1998; Fluhr, 2001). Такая возможность свидетельствует об удивительном единстве живой природы, по крайней мере на уровне двух основных групп эукариотических организмов.

Кроме общих с животными структурных элементов у растений в состав белков R могут входить домены PK и CC. В ходе эволюционного развития организмов эти блоки достаточно свободно комбинируют между собой, являясь довольно независимыми единицами.

Как было отмечено выше, TIR-NBS-LRR, вероятно, отсутствуют в Роасеае. Напротив, не-TIR-NBS-LRR-последовательности найдены во всех проверенных видах покрытосеменных растений. Объясняя эти факты, Пэн с соавт. (Pan et al., 2000a) обратили внимание на то, что TIR-NBS-LRR-последовательность найдена у *Pinus*. Это позволило им предложить модель, в которой общий предок покрытосеменных и голосеменных растений содержал оба типа NBS-LRR-последовательности, а современные травы утратили подкласс TIR-NBS-LRR после дивергенции. Как и почему это могло произойти? Если механизмы, подобные неэквивалентному кроссинговеру или

случайным утратам генов, могут объяснить удаление небольших генных семейств, то для отсутствия имеющейся, по-видимому, у всех Metazoa последовательности TIR в геномах Роасеае (или всех однодольных растений) предложить какой-то механизм пока не представляется возможным.

Гены устойчивости эволюционируют и дивергируют более быстро, чем остальной геном растений. В то же время между семействами растений наблюдаются различия в скорости эволюции генов *R*. Например, у Solanaceae, несмотря на видообразование, выявлены консервативные синтетические местоположения гомологичных генов *R*, хотя при межвидовых сравнениях в роде *Lycopersicon* часто выявляются нулевые аллели (утраты генов) (Pan et al., 2000b).

У злаков генетические локусы, содержащие предполагаемые гены устойчивости ячменя, риса и могары (*Setaria italica*), не обнаруживаются в синтетических регионах геномов, хотя порядок фланкирующих маркеров является консервативным (Ronald, 1998). Поиск *R*-подобных фрагментов NBS-LRR-класса в геномах риса, ячменя и щетинника показал существование смешанных кластеров, каждый из которых включал по меньшей мере два высоконесходных *R*-подобных гена и обширную внутривидовую вариацию в числе копий членов генных семейств у конкретных видов (Leister et al., 1998). В этой же работе межвидовые исследования *R*-подобных генов часто показывали несинтетические местоположения на генетической карте, хотя тесный коллинеарный порядок и синтения – отличительная черта для большинства генов злаков (Devos, Gale, 1997).

Факт более быстрой эволюции генов *R* злаков согласуется с утратой ими TIR-последовательности. Объяснение механизма этого явления бросает вызов специалистам в области эволюции растений.

Интересные результаты были получены при изучении генетического состояния локуса *RPML1* у *Arabidopsis thaliana* и рапса (*Brassica napus*). Этот ген отсутствует у восприимчивых растений *Arabidopsis* (*rpm1-null* растения). У них локус *rpm1-null* содержит сегмент из 98 пар нуклеотидов неизвестного происхождения (Grant et al., 1998). Из рапса были клонированы два гомолога *RPML1*, кодирующие белки с идентичностью аминокислот 81%. Коллинеарность генов, фланкирующих *RPML1*, консервативна у *B. napus* и *Arabidopsis*. Удивительно, но были обнаружены четыре дополнительных локуса у *B. napus*, в которых фланкирующий маркер сохраняется, но *RPML1* отсутствует. Эти *rpm1-null*-локусы *B. napus* не имеют никакого обнаруживаемого подобия нуклеотидов *rpm1-null* аллели *Arabidopsis*. Авторы работы сделали вывод, что *RPML1* эволюционно появился перед дивергенцией Brassicaceae и в *rpm1-null*-локусах был

удален независимо в родословных *Brassica* и *Arabidopsis* (Grant et al., 1998). Возраст аллелей *RPM1* и *rpm1-null* оценивается в 10^6 лет (Stahl et al., 1999).

Наконец, древнейшее происхождение (с сохранением древней специфики распознавания), как считают, имеет ген томата *Pto* (Riely, Martin, 2001).

Эволюция генетической организации генов устойчивости и генерация новых специфик в локусах R-генов

Многие патогены растений выявляют высокую частоту мутаций от авирулентности к вирулентности, что позволяет им избежать распознавания и обходить обусловленную конкретным геном *R* устойчивость. Поскольку естественный отбор будет благоприятствовать накоплению этих вирулентных биотипов, растения должны развивать новые варианты *R*-белков, которые могут обнаружить или измененный детерминант *Avr*, или другой компонент патогена (Keen, 1990; Michelmore, 1995; Crate, Pink, 1996). Таким образом, считается, что изменчивость генов *R* и *Avr* является отражением коэволюции растений и паразитических организмов, популярной метафорой для которой в фитоиммунологии является выражение “гонки вооружений” (arms races) (Stahl, Bishop, 2000; Rausher, 20001).

Как дублицированные, так и одиночные гены устойчивости могут развивать новые варианты специфик устойчивости с помощью точковых мутаций, вставки и удаления транспозонов (рис. 3, а). Секвенированные аллели гена *L* льна происходят от общего передкового гена (Ellis et al., 1997). В продуктах аллелей рассеяны различия отдельных аминокислот, которые могли происходить в результате накопления точковых мутаций в последовательности ДНК. Часть этой вариации может быть обусловлена “следами”, оставленными транспозирующими элементами (Lawrence et al., 1995; Ellis et al., 1997).

Тесная кластеризация многих генов устойчивости, вероятно, возникла из-за начальной дубликации геномного сегмента, который нес предковый ген. Это было достигнуто кроссинговером между гомологичными последовательностями в негомологичных положениях, возможно, облегченным существованием связанных повторяющихся элементов (рис. 3, б). Так, высоко гомологические последовательности генов существуют в локусах льна *L* (простой локус) и *M* (сложный локус). Вероятно, повторяющиеся структуры ДНК, окружающие локус *M*, но отсутствующие в области локуса *L*, помогли дубликации генов локуса *M* (Ellis et al., 1995). Существование двух почти идентичных генов *Cf-2* с одинаковой специфичностью распозна-

вания, вероятно, свидетельствует о недавно произошедшей дубликации (Dixon et al., 1996).

Основным фактором эволюции генов устойчивости считается пересортировка последовательности мейотической рекомбинацией, протекающей посредством неэквивалентного кроссинговера и конверсии (Pryor, Ellis, 1993; Jones J., 1996; Hammond-Kosack, Jones J., 1997; Meyers et al., 1998a, b; Michelmore, Meyers, 1998; Ronald, 1998; Simons et al., 1998; Thomas et al., 1998; Caicedo et al., 1999; Ellis et al., 1999; Parniske et al., 1999a, b).

Когда гены устойчивости существуют как кластеры повторяющихся генов, возможны два альтернативных обмена последовательностями. При эквивалентном обмене первый ген в комплексе может рекомбинировать только с первым геном в гомологичном комплексе, второй ген со вторым гомологом, и т. д. При неэквивалентном обмене каждый ген в последовательности может рекомбинировать с любым другим геном в гомологичном комплексе (Ellis et al., 2000). Неэквивалентный кроссинговер имеет существенное значение в генерации полиморфизма генов устойчивости растений, и простое представление о тандемных кластерах *R*-генов, в которых первый ген в одном гаплотипе наиболее родствен первому же гену в гомологичном гаплотипе и т. д., не подтверждается результатами секвенирования гаплотипов локуса *RPP5* из двух экотипов *Arabidopsis*. Гаплотипы могут содержать различное число генов, и степень подобия последовательности между генами разных гаплотипов не обязательно отражает их физическое положение в кластере (Noel et al., 1999). Аналогично в локусе *Dm3* салата близкородственные по последовательности гомологи физически отдалены друг от друга, что свидетельствует о достаточно сложных генетических перегруппировках (Meyers et al., 1998b).

Как эквивалентный, так и неэквивалентный кроссинговер может происходить в промежутках между генами, приводя к новым сочетаниям специфик, а также внутри кодирующих последовательностей, приводя к образованию химерных генов (Collins et al., 1999). Возможные события схематически изображены на рис. 3, в-д.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что подобные события действительно происходят. Это показано для локусов *Rp1* кукурузы (Hulbert, 1997), *RPP8* (McDowell et al., 1998), *RPP1* (Botella et al., 1998) и *RPP5* (Noel et al., 1999) *Arabidopsis*. Анализ последовательностей, общих для генов *Cf* (Parniske et al., 1997), также указывает, что обмен происходит между генами. Имеются предварительные доказательства обмена последовательностями между генами *Cf* неродственных локусов (Parniske, Jones J., 1999a, b).

Учитывая вероятные функции доменов белков – продуктов генов устойчивости, можно ожи-

дать, что полиморфизм будет наблюдаться прежде всего в области доменов, играющих основную роль в распознавании, поскольку именно они будут подвержены действию отбора. Для содержащих регион LRR белков имеющиеся данные подтверждают это предположение. При этом различия выражаются как в заменах отдельных аминокислот, так и в модификации длины всего региона LRR. Повторяющаяся структура обогащенных лейцином повторов облегчает внутригенную и межгенную рекомбинацию, поскольку облегчает ошибочное спаривание сестринских хроматид при мейозе и тонкие структурные перестройки в пределах гена (Ronald, 1998).

Большинство аллелей *L* у льна содержит два прямых повторения из 450 пар оснований в регионе, кодирующем область LRR. Однако аллель *L2* содержит четыре повторяющиеся единицы в области LRR, и секвенированием ДНК доказано, что дублирование возникло через неравный внутригенный обмен, который привел к появлению четырех копий от предшественника с двумя копиями (Ellis et al., 1997, 1999). Гены в локусе *Cf2/5* томата подверглись событиям делеции/вставки, включающим отдельные единицы обогащенных лейцином повторов (Thomas et al., 1997; Dixon et al., 1998). Примеры дубликации последовательностей, кодирующих отдельные обогащенные лейцином повторы, имеются также у NBS-LRR генов *Arabidopsis* (Ellis et al., 1999; Noel et al., 1999).

Полиморфизм генов устойчивости поддерживается естественным отбором, о чем свидетельствует высокое отношение несинонимических замен нуклеотидов (приводящих к заменам аминокислот) к синонимическим заменам (при которых замены аминокислот в белках не происходит). У большинства белков это отношение намного меньше единицы, так как существуют функциональные ограничения против замен аминокислот. Наоборот, если это отношение намного превосходит единицу, то считается, что естественный отбор является основным источником дивергенции между генами (Wang et al., 1998; Stahl, Bishop, 2000; Rausher, 2001). Имеются убедительные доказательства того, что многие гены устойчивости растений подвержены давлению отбора, поскольку отношение несинонимических замен к синонимическим намного больше единицы, причем несинонимические замены сосредоточены именно в той области региона LRR, которая, как предполагается, обращена наружу и взаимодействует с лигандом (Ronald, 1998; Wang et al., 1998; Stahl, Bishop, 2000; Rausher, 2001). Это, кстати, служит дополнительным доказательством важности в первую очередь региона LRR в специфическом распознавании.

Следует отметить, что не все гены устойчивости растений претерпевают быструю эволюцию. Так, высоко консервативными являются, напри-

мер, *RPM1*-гомологичные последовательности у Brassicaceae (Grant et al., 1998) и гены *Pto* и *LhirPto* у видов *Lycopersicon* (Riely, Martin, 2001). Возможно, эти гены распознают немутабельные молекулы патогенов, стабильность которых важна для патогенеза.

У *Arabidopsis* наиболее сложно организованные генные локусы включают прежде всего локусы *RPP* устойчивости к грибу *Peronospora parasitica*, который является естественным патогеном этого растения. В то же время большинство генов, определяющих единственные специфики распознавания и организованные в более простые локусы (например, *RPM1*) были идентифицированы в лаборатории с использованием патогенов, которые не были описаны в поле (Ellis et al., 2000). Пока без ответа остается вопрос, вытекают ли различные особенности этих генов из факта, что первая группа подвержена коэволюции с полевым патогеном и вторая группа – нет. Нельзя исключить, что некоторые гены второй группы имеют пока еще не идентифицированные функции, кроме расоспецифической устойчивости к болезням. Возможно, что эти гены определяют устойчивость к видам патогенов, которые паразитируют на других видах растений (так называемую устойчивость нехозяина).

В заключение этого раздела следует отметить, что растения, возможно, изобрели специализированный механизм для поддержания быстрой эволюции генов устойчивости. Это контрастирует с механизмом распознавания не-себя у млекопитающих, при котором к разнообразию антител приводят соматические события.

ПЕРСПЕКТИВЫ

Поразительные успехи в понимании функционирования генов устойчивости растений, достигнутые в последнее десятилетие, позволили ответить на некоторые вопросы, почти полвека не дававшие покоя фитоиммунологам. В то же время на уровне фундаментального понимания механизмов устойчивости растений остаются многие нерешенные ключевые проблемы. В их число входят установление функций доменов белков *R*, выявление тонких деталей распознавания продуктов генов *Avr*, идентификация первичных компонентов нисходящего потока сигнала, установление взаимоотношения между базовой и обусловленной генами *R* устойчивостью растения и многие другие.

Для специалистов в области популяционной генетики и эволюции особый интерес будут представлять исследования полиморфизма генов устойчивости в популяциях дикорастущих растений. Только такие исследования могут помочь ответить на вопрос, чем вызвана высокая скорость эво-

люции генов *R*; обусловлена ли она только сильным давлением отбора, наложенным на базовую скорость мутирования, или гены устойчивости, особенно регион, кодирующий обогащенные лейцином повторы, имеют также склонность к гипермутированию. Также ожидается своего объяснения удивительное структурно-функциональное подобие между компонентами систем врожденного иммунитета растений и животных.

Решение этих вопросов, вероятно, откроет новое понимание процессов, лежащих в основе нормального роста и развития растений и организации и эволюции их генома.

Однако изучение механизмов действия генов устойчивости имеет не только теоретическое значение. С выделением генов устойчивости растений открываются совершенно новые возможности конструирования генотипов, которые могут иметь длительную устойчивость к вредным организмам. Методы генетической трансформации позволят целенаправленно вводить детерминанты устойчивости в новые сорта растений, минуя длительные и не всегда эффективные этапы традиционной селекции, особенно в случае попыток межвидового переноса генов. Полиморфизм генов *R* позволяет надеяться на создание сортов культурных растений, которые будут сочетать гомозиготность по хозяйственно-ценным признакам и генетический полиморфизм по генам устойчивости. Такой подход, как предсказывают закономерности популяционной генетики, обеспечит эффект долговременного сохранения устойчивости (Jones J., 2001).

Наконец, уже не такой фантастической представляется мысль, что дальнейшее проникновение в молекулярные основы специфичности взаимодействия белков *R* и *Avr* позволят сконструировать искусственные гены устойчивости, распознающие немутабельные молекулы патогенов, имеющие ключевое значение для патологического процесса. Если такой подход удастся реализовать, то практическое значение этого невозможно переоценить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aderem A., Ulevitch R. J., 2000. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response // *Nature*. V. 8. P. 452-456.
- Ashfield T., Keen N.T., Buzzell R.I., Innes R.W., 1995. Soybean resistance genes specific for different *Pseudomonas syringae* avirulence genes are allelic, or closely linked, at the *RPG1* locus // *Genetics*. V. 141. № 4. P. 1597-1604.
- Ayliffe M.A., Frost D.V., Finnegan E.J., Lawrence G.J., Anderson P.A., Ellis J.G., 1999. Analysis of alternative transcripts of the flax *L6* rust resistance gene // *Plant J.* V. 17. № 3. P. 287-292.
- Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S.P., 1997. Signaling in plant-microbe interactions // *Science*. V. 276. № 5313. P. 726-733.
- Becraft P.W., 1998. Receptor kinases in plant development // *Trends Plant Sci.* V. 3. № 10. P. 384-388.
- Bevan M., Bancroft I., Bent E. et al., 1998. Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana* // *Nature*. V. 391. № 6666. P. 485-488.
- Botella M.A., Parker J.E., Frost L.N., Bittner-Eddy P.D., Beynon J.L., Daniels M.J., Holub E.B., Jones J.D.G., 1998. Three genes of the *Arabidopsis* *RPP1* complex resistance locus recognize distinct *Peronospora parasitica* avirulence determinants // *Plant Cell*. V. 10. № 11. P. 1847-1860.
- Boyes D.C., Nam J., Dangl J.L., 1998. The *Arabidopsis thaliana* *RPM1* disease resistance gene product is a peripheral plasma membrane protein that is degraded coincident with the hypersensitive response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 95. № 26. P. 15849-15854.
- Braun D.M., Walker J.C., 1996. Plant transmembrane receptors: new pieces in the signaling puzzle // *Trends Biol. Sci.* V. 21. № 1. P. 70-73.
- Brosch G., Ransom R., Lechner T., Walton J.D., Loidl P., 1995. Inhibition of maize histone deacetylases by HC toxin, the host-selective toxin of *Cochliobolus carbonum* // *Plant Cell*. V. 7. № 11. P. 1941-1950.
- Bryan G.T., Wu K.-S., Farrall L., Jia Y., Hershey H.P., McAdams S.A., Faulk K.N., Donaldson G.K., Tarchini R., Valent B., 2000. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta* // *Plant Cell*. V. 12. № 11. P. 2033-2046.
- Cai D., Kleine M., Kifle S., Harloff H.-J., Sandal N.N., Marcker K.A., Klein-Lankhorst R.M., Salentijn E. M. J., Lange W., Stiekema W. J., Wyss U., Grundler F.M.W., Jung C., 1997. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet // *Science*. V. 275. № 5301. P. 832-834.
- Caicedo A.L., Schaal B. A., Kunkel B.N., 1999. Diversity and molecular evolution of the *RPS2* resistance gene in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 96. № 1. P. 302-306.
- Cao Z.O., Henzel W.J., Gao X.O., 1996. IRAK: A kinase associated with the interleukin-1 receptor // *Science*. V. 271. P. 1128-1131.
- Chinnaiyan A.M., Chaudhary D., O'Rourke K., Koonin E.V., Dixit V.M., 1997. Role of CED-4 in the activation of CED-3 // *Nature*. V. 388. P. 728-729.
- Clakr S. E., Running M. P., Meyerowitz E. M., 1995. *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1* // *Development*. V. 121. № 7. P. 2057-2067.
- Clark S.E., Williams R.W., Meyerowitz E.M., 1997. The *CLAVATA3* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis* // *Cell*. V. 89. № 4. P. 575-585.
- Collins N., Drake J., Ayliffe M., Sun Q., Ellis J., Hulbert S., Pryor T., 1999. Molecular characterization of the maize *Rpl-D* rust resistance haplotype and its mutants // *Plant Cell*. V. 11. № 7. P. 1365-1376.
- Cooleya M.B., Pathiranaa S., Wua H., Kachrooa P., Klessig D.F., 2000. Members of the *Arabidopsis* *HRT/RPP8*

- family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens // *Plant Cell*. V. 12. № 5. P. 663-676.
- Crute I.R., Pink D.A.C., 1996. The genetics and utilization of pathogen resistance in plants // *Plant Cell*. V. 8. № 10. P. 1747-1755.
- Dangl J.L., Jones J.D.G., 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection // *Nature*. V. 411. № 6839. P. 826-833.
- De Wit P.J.G.M., Joosten M.H.A.J., 1999. Avirulence and resistance genes in the *Cladosporium fulvum*-tomato interaction // *Curr. Opin. Microb.* V. 2. № 4. P. 368-373.
- Devos K.M., Gale M.D., 1997. Comparative genetics in the grasses // *Plant Mol. Biol.* V. 35. № 1. P. 3-15.
- Dinesh-Kumar S.P., Baker B.J., 2000. Alternatively spliced N resistance gene transcripts: Their possible role in tobacco mosaic virus resistance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 97. №4. P. 1908-1913.
- Dixon M.S., Jones D.A., Keddie J.S., Thomas C.M., Harrison K., Jones J.D.G., 1996. The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucinerich repeat proteins // *Cell*. V. 84. № 34. P. 51-59.
- Dixon M.S., Hatzixanthis K., Jones D.A., Harrison K., Jones J.D.G., 1998. The tomato cf-5 disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucinerich repeat copy number // *Plant Cell*. V. 10. № 11. P. 1915-1926.
- Ellis J.G., Lawrence G.J., Finnegan E.J., Anderson P.A., 1995. Contrasting complexity of two rust resistance loci in flax // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 92. № 10. P. 4185-4188.
- Ellis J., Lawrence G., Ayliffe M., Anderson P., Collins N., Finnegan J., Frost D., Luck J., Pryor T., 1997. Advances in the molecular genetic analysis of the flax-flax rust interaction // *Annu. Rev. Phytopathol.* V. 35. P. 271-291.
- Ellis J., Jones D., 1998. Structure and function of proteins controlling strain-specific pathogen resistance in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 1. № 4. P. 288-293.
- Ellis J.G., Lawrence G.J., Luck J.E., Dodds P.N., 1999. Identification of regions in alleles of the flax rust resistance gene *L* that determine differences in gene-for-gene specificity // *Plant Cell*. V. 11. № 3. P. 495-506.
- Ellis J., Dodds P., Pryor T., 2000. Structure, function and evolution of plant disease resistance genes // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 3. № 4. P. 278-284.
- Eulgem T., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I.E., 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors // *Trends Plant Sci.* V. 5. № 5. P. 199-206.
- Felix G., Duran J., Volko S., Boller T., 1999. Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin // *Plant J.* V. 18. № 3. P. 265-276.
- Flor H.H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept // *Annu. Rev. Phytopathol.* V. 9. P. 275-296.
- Fluhr R., 2001. Sentinels of disease. Plant resistance genes // *Plant Physiol.* V. 127. № 12. P. 1367-1374.
- Jabs T., Colling C., Tschöpe M., Hahlbrock K., Scheel D., 1997. Elicitor-stimulated ion fluxes and reactive oxygen species from the oxidative burst signal defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. №. 94. № 9. p. 4800-4805.
- Ji C., Smith-Becker J., Keen N.T., 1998. Genetics of plant-pathogen interactions // *Curr. Opin. Biotechnol.* V. 9. № 2. P. 202-207.
- Jia Y., Loh Y.-T., Zhou J., Martin G.B., 1997. Alleles of *Pto* and *Fen* occur in bacterial speck-susceptible and fenthion-insensitive tomato cultivars and encode active protein kinases // *Plant Cell*. V. 9. № 1. P. 61-73.
- Johal G.S., Briggs S.P., 1992. Reductase activity encoded by the *HMI* disease resistance gene in maize // *Science*. V. 258. P. 985-987.
- Jones D.A., Thomas C.M., Hammond-Kosack K.E., Balint-Kurti P.K., Jones J.D.G., 1994. Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging // *Science*. V. 266. P. 789-793.
- Jones J.D.G., 1996. Plant disease resistance genes structure, function and evolution // *Curr. Opin. Biotechnol.* V. 7. №2. P. 155-160.
- Jones D.A., Jones J.D.G., 1996. The roles of leucine-rich repeat proteins in plant defences // *Adv. Bot. Res. Inc. Adv. Plant Pathol.* V. 24. P. 89-167.
- Jones J.D.G., 2001. Putting knowledge of plant disease resistance genes to work // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 4. № 4. P. 281-287.
- Halterman D., Zhou F., Wei F., Wise R.P., Schulze-Lefert P., 2001. The MLA6 coiled-coil, NBS-LRR protein confers AvrMla6-dependent resistance specificity to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in barley and wheat // *Plant J.* V. 25. P. 335-348.
- Hamm H.E., Gilchrist A., 1996. Heterotrimeric G proteins // *Curr. Opin. Cell Biol.* V. 8. № 2. P. 189-196.
- Hammond-Kosack K.E., Jones J.D.G., 1996. Disease resistance gene-dependent plant defence mechanisms // *Plant Cell*. V. 8. № 10. P. 1773-1791.
- Hammond-Kosack K.E., Jones J.D.G., 1997. Plant disease resistance genes // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* V. 48. P. 575-607.
- Hashimoto C., Hidson K.L., Anderson K.V., 1988. The *Toll* gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein // *Cell*. V. 52. № 2. P. 269-279.
- He Z., Wang Z.Y., Li J., Zhu Q., Lamb C., Ronald P., Chory J., 2000. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1 // *Science*. V. 288. P. 2360-2363.
- Holub E.B., 2001. The arms race is ancient history in *Arabidopsis*, the wildflower // *Nature Reviews Genetics*. V. 2. №7. P. 516-527.
- Hulbert S.H., 1997. Structure and evolution of the *rp1* complex conferring rust resistance in maize // *Annu. Rev. Phytopathol.* V. 35. P. 293-310.
- Hulbert S.H., Webb C.A., Smith S.M., Sin Q., 2001. Resistance gene complexes: evolution and utilization // *Annu. Rev. Phytopathol.* V. 39. P. 285-312.
- Inohara N., Ogura Y., Chen F., Nunez G., 2001. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides // *J. Biol. Chem.* V. 276. № 4. P. 2551-2554.
- Galindo R.L., Edwards D.N., Gillespie S.K.H., Wasserman S.A., 1995. Interaction of the pelle kinase with the membrane-associated protein tube is required for transduction of the dorsoventral signal in *Drosophila* embryos // *Development*. V. 121. № 7. P. 2209-2218.

- Glazebrook J., 2001. Genes controlling expression of defence responses in *Arabidopsis* – 2001 status // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 4. № 4. P. 301-308.
- Glazebrook J., Rogers E.E., Ausubet F.M., 1997. Use of *Arabidopsis* for genetic dissection of plant defence responses // *Annu. Rev. Genet.* V. 31. P. 547-569.
- Gopalan S., Bauer D.W., Alfano J.R., Loniello A.O., He S.Y., Collmer A., 1996. Expression of the *Pseudomonas syringae* avirulence protein AvrB in plant cells alleviated its dependence on the hypersensitive response and pathogenicity (Hrp) secretion system in eliciting genotype-specific hypersensitive cell death // *Plant Cell.* V. 8. № 7. P. 1095-1105.
- Grant M.R., Godiard L., Sträube E., Ashfield T., Lewald J., Sattler A., Innes R.W., Dangl J.L., 1995. Structure of the *Arabidopsis* RPM1 gene enabling dual specificity disease resistance // *Science.* V. 269. № 5225. P. 843-846.
- Grant M.R., McDowd J.M., Sharpe A.G., Zabala M.T., Lydiate D.J., Dangl J.L., 1998. Independent deletions of a pathogen-resistance gene in *Brassica* and *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 95. № 26. P. 15843-15848.
- Kajava A.V., 1998. Structural diversity of leucine-rich repeat proteins // *J. Mol. Biol.* V. 277. P. 519-527.
- Keen N.T., 1990. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions // *Annu. Rev. Genet.* V. 24. P. 447-463.
- Kobe B., Deisenhofer J., 1994. The leucine-rich repeat: a versatile binding motif // *Trends Biochem. Sci.* V. 19. P. 415-421.
- Kooman-Gersmann M., Honee G., Bonnema G., De Wit P.J.G.M., 1996. A high-affinity binding site for the AVR9 peptide elicitor of *Cladosporium fulvum* is present on plasma membranes of tomato and other solanaceous plants // *Plant Cell.* V. 8. № 6. P. 929-938.
- Lahaye T., Bonas U., 2001. Molecular secrets of bacterial type III effector proteins // *Trends Plant Sci.* V. 6. № 10. P. 479-485.
- Lam E., Kato N., Lawton M., 2001. Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response // *Nature.* V. 411. № 6839. P. 848-853.
- Lawrence G.J., Finnegan E.J., Ayliffe M.A., Ellis J.G., 1995. The L6 gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene RPS2 and the tobacco viral resistance gene N // *Plant Cell.* V. 7. № 8. P. 1195-1206.
- Leister D., Kurth J., Laurie D.A., Yano M., Sasaki T., Devos K., Graner A., Schulze-Lefert P., 1998. Rapid reorganization of resistance gene homologues in cereal genomes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 95. № 1. P. 370-375.
- Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.-M., Hoffmann J.A., 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults // *Cell.* V. 86. № 6. P. 973-983.
- Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., Srinvasula S.M., Ahmad M., Alnemri E.S., Wang X., 1997. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade // *Cell.* V. 91. № 4. P. 479-487.
- Ligternik W., Kroj T., zur Nieden U., Hirt H., Scheel D., 1997. Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defence of plants // *Science.* V. 276. № 5321. P. 2054-2057.
- Loh Y.-T., Martin G.B., 1995. The *Pto* bacterial resistance gene and the *Fen* insecticide sensitivity gene encode functional protein kinases with serine/threonine specificity // *Plant Physiol.* V. 108. № 4. P. 1735-1739.
- Luderer R., Rivas S., Nürnberger T., Mattel B., Van den Hooven H.W., Van der Hoorn R.A., Romeis T., Wehrfritz I.M., Blume B., Nennstiel D., Zuidema D., Vervoort J., De Lorenzo G., Jones J.D., DeWit P.J., Joosten M.N., 2001. No evidence for binding between resistance gene product Cf-9 of tomato and avirulence gene product AVR9 of *Cladosporium fulvum* // *Mol. Plant-Microbe Interact.* V. 14. № 7. P. 867-876.
- Lupas A., 1996. Coiled coils: new structures and new functions // *Trends Biochem. Sci.* V. 21. P. 375-382.
- Martin G.B., 1999. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 2. № 4. P. 273-279.
- Martin G.B., Brommonschenkel S.H., Chunwongse J., Frary A., Ganai M.W., Spivey R., Wu T., Earle E.D., Tanksley S.D., 1993. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato // *Science.* V. 262. P. 1432-1436.
- Mayer K., Schüller C., Wambutt R. et al., 1999. Sequence and analysis of chromosome 4 of the plant *Arabidopsis thaliana* // *Nature.* V. 402. № 6763. P. 769-777.
- McDowell J.M., Dhandaydham M., Long T.A., Aarts M.G.M., Goff S., Holub E.B., Dangl J.L., 1998. Intragenic recombination and diversifying selection contribute to the evolution of downy mildew resistance at the RPP8 locus of *Arabidopsis* // *Plant Cell.* V. 10. № 11. P. 1861-1874.
- Medzhitov R., Janeway C Jr., 2000. The Toll receptor family and microbial recognition // *Trends Microbiol.* V. 8. № 10. P. 452-456.
- Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A., 1997. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity // *Nature.* V. 338. P. 394-397.
- Meyers B.C., Chin D.B., Shen K.A., Sivaramakrishnan S., Lavelle D.O., Zhang Z., Micheltore R.W., 1998a. The major resistance gene cluster in lettuce is highly duplicated and spans several megabases // *Plant Cell.* V. 10. № 11. P. 1817-1832.
- Meyers B.C., Shen K.A., Rohani R., Gout B.S., Micheltore R.W., 1998b. Receptor-like genes in the major resistance locus of lettuce are subject to divergent selection // *Plant Cell.* V. 10. № 11. P. 1833-1846.
- Meyers B.C., Dickermann A.W., Micheltore R.W., Sivaramakrishnan S., Sobral B.W., Young N.D., 1999. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide binding superfamily // *Plant J.* V. 20. № 3. P. 317-332.
- Micheltore R.W., 1995. Isolation of disease resistance genes from crop plants // *Curr. Opin. Biotechnol.* V. 6. № 2. P. 145-152.
- Micheltore R.W., Meyers B.C., 1998. Clusters of resistance genes in plants evolve by a divergent selection and a birth and death process // *Genome Res.* V. 8. № 11. P. 113-130.

- Milligan S.B., Bodeau J., Yaghoobi I., Kaloshian L., Zabel P., Williamson V.M., 1998. The root knot nematode resistance gene *mi* from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes // *Plant Cell*. V. 10. № 8. P. 1307-1320.
- Mindrinis M., Katagiri F., Yi G.-L., Ausubet F.M., 1994. The *A. thaliana* disease resistance gene *RPS2* encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats // *Cell*. V. 78. № 6. P. 1089-1099.
- Morisato D., Anderson K.V., 1995. Signaling pathways that establish the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo // *Annu. Rev. Genet.* V. 29. P. 371-399.
- Multani D.S., Meeley R.B., Paterson A.H., Gray J., Briggs S.P., Johal G.S., 1998. Plant pathogen microevolution: molecular basis for the origin of a fungal disease in maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 95. № 4. P. 1686-1691.
- Noel L., Moores T.L., van der Biegen E.A., Parniske M., Daniels M.J., Parker J.E., Jones J.D.G., 1999. Pronounced intraspecific haplotype divergence at the *RPP5* complex disease resistance locus of *Arabidopsis* // *Plant Cell*. V. 11. № 11. P. 2099-2112.
- Ogura Y., Inohara N., Benito A., Chen F.F., Yamaoka D., Nuzien G., 2001. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF- κ B // *J. Biol. Chem.* V. 276. № 7. P. 4812-4818.
- O'Neill L.A.J., 1995. Interleukin-1 signal transduction // *Int. J. Clin. Lab. Res.* V. 25. P. 169-177.
- O'Neill L.A., Greene C., 1998. Signal transduction pathways activated by the IL-1 receptor family: ancient signaling machinery in mammals, insects, and plants // *J. Leukoc. Biol.* V. 63. P. 650-657.
- On N., Eshed Y., Paran I., Presting G., Aviv D., Tanksley S., Zamir D., Fluhr R., 1997. The *I2C* family from the wilt disease resistance locus *I2* belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant disease resistance genes // *Plant Cell*. V. 9. № 4. P. 521-532.
- Pan Q., Wendel J., Fluhr R., 2000a. Divergent evolution of plant NBS-LRR resistance gene homologues in dicot and cereal genomes // *J. Mol. Evol.* V. 50. № 3. P. 203-213.
- Pan Q., Liu Y.-S., Budai-Hadrian O., Sela M., Carmel-Goren L., Zamir D., Fluhr R., 2000b. Comparative genetics of nucleotide binding site-leucine rich repeat resistance gene homologues in the genomes of two dicotyledons: tomato and *Arabidopsis* // *Genetics*. V. 155. P. 309-322.
- Panaccione D.G., Scott-Craig J.S., Pocard J.A., Walton J.D.A., 1992. Cyclic peptide synthetase gene required for pathogenicity of the fungus *Cochliobolus carbonum* on maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 89. № 14. P. 6590-6594.
- Parker J.E., Coleman M.J., Szabo V., Frost L.N., Schmidt R., van der Biezen E., Moores T., Dean C., Daniels M.J., Jones J.D.G., 1997. The *Arabidopsis* downy mildew resistance gene *RPP5* shares similarity to the Toll and Interleukin-1 receptors with *N* and *L6* // *Plant Cell*. V. 9. № 6. P. 879-894.
- Parniske M., Hammond-Kosack K.E., Golstein C., Thomas C.M., Harrison K., Wulff B.H., Jones J.D.G., 1997. Novel disease resistance specificities result from sequence exchange between tandemly repeated genes at the *Cf-4/9* locus of tomato // *Cell*. V. 91. № 6. P. 821-832.
- Parniske M., Jones J.D., 1999a. Recombination between diverged clusters of the tomato *Cf-9* plant disease resistance gene family // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 96. № 10. P. 5850-5855.
- Parniske M., Wulff B.B.H., Bonnema G., Thomas C.M., Jones D.A., Jones J.D.G., 1999b. Homologues of the *Cf-9* disease resistance gene (*Hcr9s*) are present at multiple loci on the short arm of tomato chromosome 1 // *Mol. Plant-Microbe Interact.* V. 12. № 2. P. 93-102.
- Piedras P., Hammond-Kosack K.E., Karrison K., Jones J.D.G., 1998. Rapid, Cf-9 and Avr9 dependent, production of active oxygen species in tobacco suspension cultures // *Mol. Plant-Microbe Interact.* V. 11. № 12. P. 1155-1166.
- Pryor T., Ellis J., 1993. The genetic complexity of fungal resistance genes in plants // *Adv. Plant Pathol.* V. 10. P. 281-305.
- Rausher M.D., 2001. Co-evolution and plant resistance to natural enemies // *Nature*. V. 411. № 6839. P. 857-864.
- Renter A.L., Van der Hoorn R.A., De Wit P.J., Joosten M.H., 2002. Balancing selection favors guarding resistance proteins // *Trends Plant Sci.* V. 7. № 2. P. 67-71.
- Rieley B.K., Martin G.B., 2001. Ancient origin of pathogen recognition specificity conferred by the tomato disease resistance gene *Pto* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 98. № 4. P. 2059-2064.
- Rivasa S., Romeisa T., Jones J.D.G., 2002. The Cf-9 disease resistance protein is present in an ~ 420 kilodalton heteromultimeric membrane-associated complex at one molecule per complex // *Plant Cell*. V. 14. № 3. P. 689-702.
- Rock F.L., Hardiman G., Timans J.C., Kastelein R.A., Bazan J.F., 1998. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 95. № 2. P. 588-593.
- Romeis T., Piedras P., Zhang S., Klessig D.F., Hirt H., Jones J.D.G., 1999. Rapid Avr 9- and Cf-9-dependent activation of map kinases in tobacco cell cultures and leaves: convergence of resistance gene, elicitor, wound, and salicylate responses // *Plant Cell*. V. 11. № 2. P. 273-288.
- Ronald P.C., 1998. Resistance gene evolution // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 1. № 4. P. 294-298.
- Salmeron J.M., Oldroyd G.E.D., Rommens C.M.T., Scofield S.R., Kim H.-S., Lavelle D.T., Dahlbeck D., Staskawicz B.J., 1996. Tomato *Prf1* a member of the leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes and lies embedded within the *Pro* kinase gene cluster // *Cell*. V. 86. № 1. P. 123-133.
- Schmidt E.D.L., Guzzo F., Toonen M.A.J., de Vries S.C., 1997. A leucine-rich repeat containing receptor-like kinase marks somatic plant cells competent to form embryos // *Development*. V. 124. № 10. P. 2049-2062.
- Scofield S.R., Tobias C.M., Rathjen J.P., Chang J.H., Lavelle D.T., Michelson R.W., Staskawicz B.J., 1996. Molecular basis of gene-for-gene specificity in bacterial speck disease of tomato // *Science*. V. 274. № 5295. P. 2063-2065.
- Sessa G., D'Ascenzo M., Loh Y.T., Martin G.B., 1998. Biochemical properties of two protein kinases involved in disease resistance signaling in tomato // *J. Biol. Chem.* V. 273. № 25. P. 15860-15865.
- Shelton C.A., Wasserman S.A., 1993. *pelle* encodes a protein kinase required to establish dorsoventral polarity in the *Drosophila* embryo // *Cell*. V. 72. № 4. P. 515-525.

- Shen K.A., Chin D.B., Arroyo-Garcia R., Ochoa O.E., Lavelle D.O., Wroblewski T., Meyers B.C., Michelmore R.W., 2002. Dm3 is one member of a large constitutively expressed family of nucleotide binding site-leucine-rich repeat encoding genes // *Mol. Plant Microbe Interact.* V. 15. № 3. P. 251-261.
- Simons G., Groenenbdiik J., Wijbrandi J., Reijans M., Groenen J., Diergaarde P., Van der Lee T., Bleeker M., Onstenk J., de Both M., Haring M., Mes J., Cornelissen B., Zabeau M., Vos P., 1998. Dissection of the fusarium I2 gene cluster in tomato reveals six homologs and one active gene copy // *Plant Cell.* V. 10. № 6. P. 1055-1068.
- Song W.-Y., Wang G.-L., Chen L., Kim H.-S., Pi L.-Y., Gardner J., Wang B., Halsten T., Zhai W.-X., Zhu L.-H., Fauquet C., Ronald P.C., 1995. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene *Xa21* // *Science.* V. 270. P. 1804-1806.
- Song W.-Y., Pi L.-Y., Wang G.-L., Gardner J., Halsten T., Ronald P.C., 1997. Evolution of the rice *Xa21* disease resistance gene family // *Plant Cell.* V. 9. № 8. P. 1279-1287.
- Stahl E.A., Dwyer G., Mauricio R., Kreitman M., Bergelson J., 1999. Dynamics of disease resistance polymorphism at the *Rpm1* locus of *Arabidopsis* // *Nature.* V. 400. P. 667-671.
- Stahl E.A., Bishop J.G., 2000. Plant-pathogen arms races at the molecular level // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 3. № 4. P. 299-304.
- Stein J.C., Dixit R., Nasrallah M.E., Nasrallah J.B., 1996. SRK, the stigma-specific *S* locus receptor kinase of *Brassica*, is targeted to the plasma membrane in transgenic tobacco // *Plant Cell.* V. 8. № 3. P. 429-445.
- Suzuki N., Choe H.-R., Nishida Y., Yamawaki-Kataoka Y., Ohnishi S., Tamaoki T., Kataoka T., 1990. Leucine-rich repeats and carboxyl terminus are required for interaction of yeast adenylate cyclase with RAS proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 87. № 22. P. 8711-8715.
- Tang X., Frederick R.D., Zhou J., Halterman D.A., Jia Y., Martin G.B., 1996. Initiation of plant disease resistance by physical interaction of *avrPto* and *Pto* kinase // *Science.* V. 274. № 5295. P. 2060-2063.
- Taylor C.B., 1998. Defense responses in plants and animals - more of the same // *Plant Cell.* V. 10. № 6. P. 873-876.
- The Arabidopsis genome initiative, 2000. Analysis of the genome of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* // *Nature.* V. 408. № 6814. P. 796-815.
- Thomas C.M., Jones D.A., Parniske M., Harrison K., Balint-Kurti P.J., Hatzixanthis K., Jones J.D.G., 1997. Characterization of the tomato *Cf-4* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognition specificity in *Cf-4* and *Cf-9* // *Plant Cell.* V. 9. № 12. P. 2209-2224.
- Thomas C.M., Dixon M.S., Parniske M., Golstein C., Jones J.D.G., 1998. Genetic and molecular analysis of tomato *Cf* genes for resistance to *Cladosporium fulvum* // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)* V. 353. № 1374. P. 1413-1424.
- Torii K.U., Mitsukawa N., Oosumi T., Matsuura Y., Yokoyama R., Whittier R.F., Komeda Y., 1996. The *Arabidopsis ERECTA* gene encodes a putative receptor protein kinase with extracellular leucine-rich repeats // *Plant Cell.* V. 8. № 4. P. 745-746.
- Trait T.W., 1994. The functions and consensus motifs of nine types of peptide segments that form different types of nucleotide-binding sites // *Eur. J. Biochem.* V. 229. № 1. P. 9-19.
- Van der Biezen E.A., Jones J.D.G., 1998. The NB-ARC domain: a novel signalling motif shared by plant resistance gene products and regulators of cell death in animals // *Curr. Biol.* V. 8. № 7. P. R226-R227.
- Van Der Hoorn R.A., Roth R., De Wit P.J., 2001. Identification of distinct specificity determinants in resistance protein *cf-4* allows construction of a *cf-9* mutant that confers recognition of avirulence protein *avr4* // *Plant Cell.* V. 13. № 2. P. 273-285.
- Van der Voort R.J.R., Kanyuka K., van der Vossen E., Bendahmane A., Mooijman P., Klein-Lankhorst R., Stiekema W., Baulcombe D., Bakker J., 1999. Tight physical linkage of the nematode resistance gene *Gpa2* and the virus resistance gene *Rx* on a single segment introgressed from the wild species *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* CPC1673 into cultivated potato // *Mol. Plant-Microbe Int.* V. 12. № 3. p. 197-206.
- Walbot V., 1985. On the life strategies of plants and animals // *Trends Genet.* V. 1. № 2. P. 165-169.
- Walton J.D., 1996. Host-selective toxins: agents of compatibility // *Plant Cell.* V. 8. № 10. P. 1723-1733.
- Wang G.-L., Ruan D.-L., Song W.-Y., Sideris S., Chen L., Pi L.-Y., Zhang S., Zhang Z., Fauquet C., Gaut B.S., Whalen M.C., Ronald P.C., 1998. *Xa21D* encodes a receptor-like molecule with a leucine-rich repeat domain that determines race-specific recognition and is subject to adaptive evolution // *Plant Cell.* V. 10. № 5. P. 765-779.
- Warren R.F., Henk A., Mowery P., Holub E., Innes R.W., 1998. A mutation within the leucine rich repeat domain of the *Arabidopsis* disease resistance gene *RPS5* partially suppresses multiple bacterial and downy mildew resistance genes // *Plant Cell.* V. 10. № 10. P. 1439-1452.
- Wasserman S.A., 1993. A conserved signal transduction pathway regulating the activity of the *rel*-like proteins dorsal and NF- κ B // *Mol. Biol. Cell.* V. 4. № 8. P. 767-771.
- Whitham S., Dinesh-Kumar S.P., Choi D., Hehl R., Corr C., Baker B., 1994. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*: Similarity to Toll and the interleukin-1 receptor // *Cell.* V. 78. № 6. P. 1011-1015.
- Williams M.J., Rodriguez A., Kimbrell D.A., Eldon E.D., 1997. The *18-wheeler* mutation reveals complex antibacterial gene regulation in *Drosophila* defense // *EMBO J.* V. 16. № 20. P. 6120-6130.
- Williamson V.M., 1999. Plant nematode resistance genes // *Curr. Opin. Plant Biol.* V. 2. № 4. P. 327-331.
- Wulff B.B., Thomas C.M., Smoker M., Grant M., Jones J.D., 2001. Domain swapping and gene shuffling identify sequences required for induction of an Avr-dependent hypersensitive response by the tomato *Cf-4* and *Cf-9* proteins // *Plant Cell.* V. 13. № 2. P. 255-272.
- Xiao S., Ellwood S., Findlay K., Oliver R.P., Turner J.G., 1997. Characterization of three loci controlling resistance of *Arabidopsis thaliana* accession Ms-0 to two powdery mildew diseases // *Plant J.* V. 12. № 4. P. 757-768.
- Xiao S., Ellwood S., Calis O., Patrick E., Li T., Coleman M., Turner J.G., 2001. Broad spectrum mildew resistance in

- Arabidopsis thaliana* mediated by *RPW8* // Science. V. 291. №5501. P. 118-120.
- Yoshimura S., Yamanouchi U., Katayose Y., Toki S., Wang Z.-X., Kono L., Kurata N., Yano M., Iwata N., Sasaki T., 1998. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 95. №4. P. 1663-1668.
- Young N.D., 2000. The genetic architecture of resistance // Curr. Opin. Plant Biol. V. 3. № 4. P. 285-290.
- Zhou J., Loh Y.-T., Bressan R.A., Martin G.B., 1995. The tomato gene *Pti1* encodes a serine/threonine kinase that is phosphorylated by Pto and is involved in the hypersensitive response // Cell. V. 83. № 6. P. 925-935.
- Zhou F., Kurth J., Wei F., Elliott C., Vale G., Yahiaoui N., Keller B., Somerville S., Wise R., Schulze-Lefert P., 2001. Cell-autonomous expression of barley *Mla1* confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a *Rar1*-independent signaling pathway // Plant Cell. V. 13. № 2. P. 337-350.

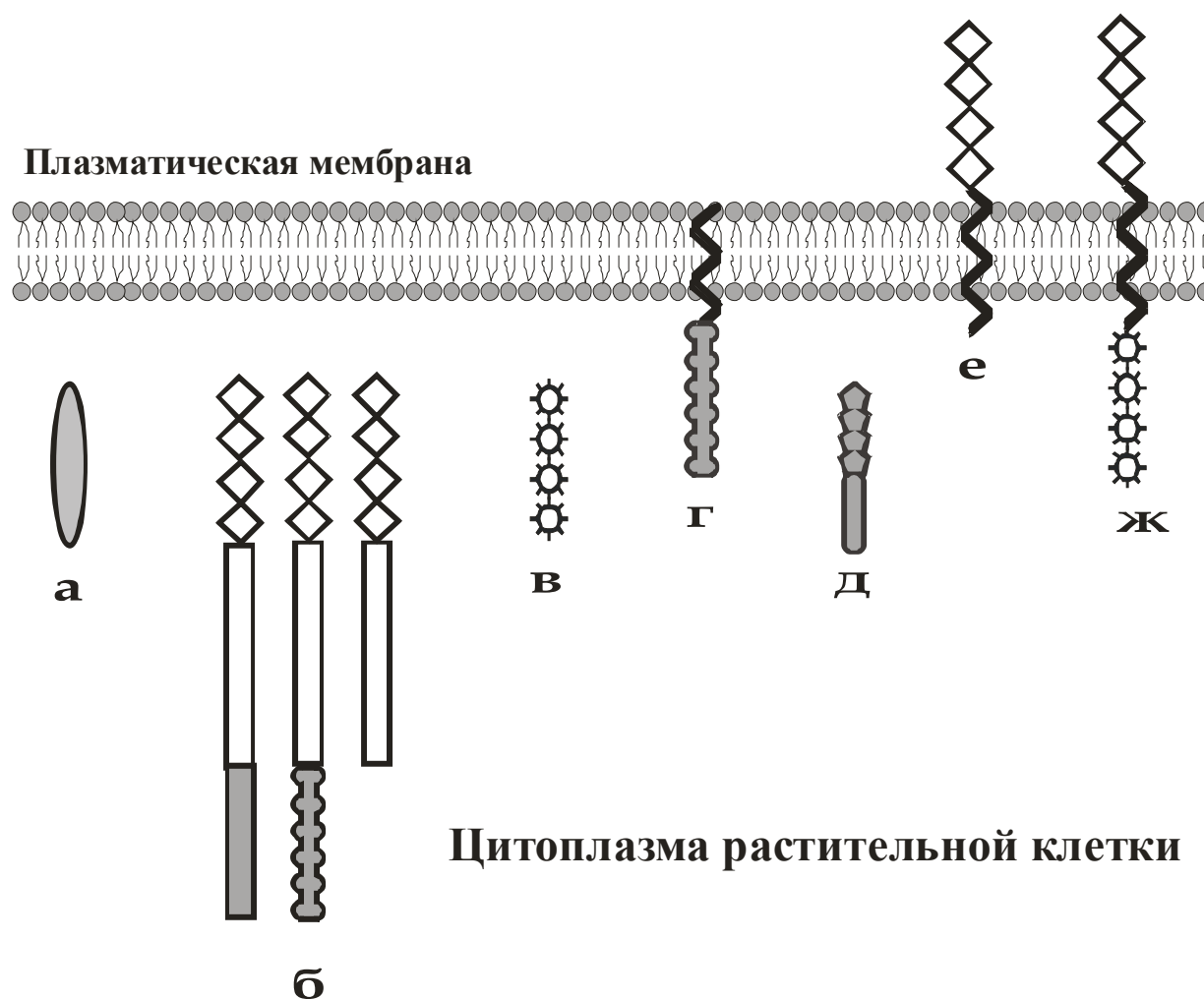
Plant Resistance Genes: Molecular and Genetic Organisation, Function and Evolution

S. N. Shamray

Department of Mycology and Phytoimmunology, Kharkiv National University,
4, Svobody sq., Kharkiv, 61077 Ukraine
e-mail: Sergei.N.Shamrai@univer.kharkov.ua

Remarkable progress is achieved now in comprehension of mechanisms that determine functioning of genes responsible for plants' phytopathogenic resistance (genes *R*). Cloning of great number of Monocotyledones and Dicotyledones resistance genes show that most of proteins coded by these genes have conserved amino-acid motives, which show high homology to amino-acid motives of proteins with well-designated function. Common structures for most proteins produced by genes *R* include nucleotide-binding site (NBS), leucine-rich repeat (LRR), site containing homology with the cytoplasmic domains of the *Drosophila* Toll protein and the mammalian interleukin-1 receptor (TIR), coiled-coil structure (CC), transmembrane domain (TM), and serine/threonine protein kinase domain (PK). They are combined within the basic classes of resistance genes proteins as follows: TIR-NBS-LRR, CC-NBS-LRR, NBS-LRR, PK, TM-CC, LRR-TM, LRR-TM-PK. The domains of proteins produced by plant resistance genes cause specific recognition of avirulence genes products and activate signaling cascade, which gives rise to resistance reaction. Some classes of plant resistance genes probably have the same evolutionary origin as the genes that control the innate immunity of ancient animals. The evolution of plant *R* genes proceeds primarily by duplication and equal or unequal meiotic recombination. The research on genes *R* functioning besides its theoretical value is a matter of considerable practical interest for construction of plant genotypes resistant against harmful organisms. The progress in comprehension of mechanisms responsible for specificity of avirulence determinants in phytopathogenic organisms recognition makes possible the creation of artificial resistance genes.

Внеклеточное пространство



Домены белков R



Рис. 1. Схематическое изображение клеточной локализации и молекулярной организации семи классов белков-продуктов генов устойчивости растений: **а** – НС-токсинредуктаза; **б** – NBS-LRR; **в** – PK; **г** – TM-CC; **д** – белок Hs1^{pro-1}; **е** – TM-LRR; **ж** – PK-TM-LRR. **LRR** – регион обогащенных лейцином повторов; **NBS** – сайт связывания нуклеотидов; **TIR** – домен с гомологией цитоплазматическим доменам белка Toll *Drosophila* и рецептора интерлейкина-1 млекопитающих; **PK** – домен серин/треонин-специфической протеинкиназы; **CC** – суперспиральный домен; **TM** – трансмембранный домен. Относительные размеры белков и их доменов произвольны.

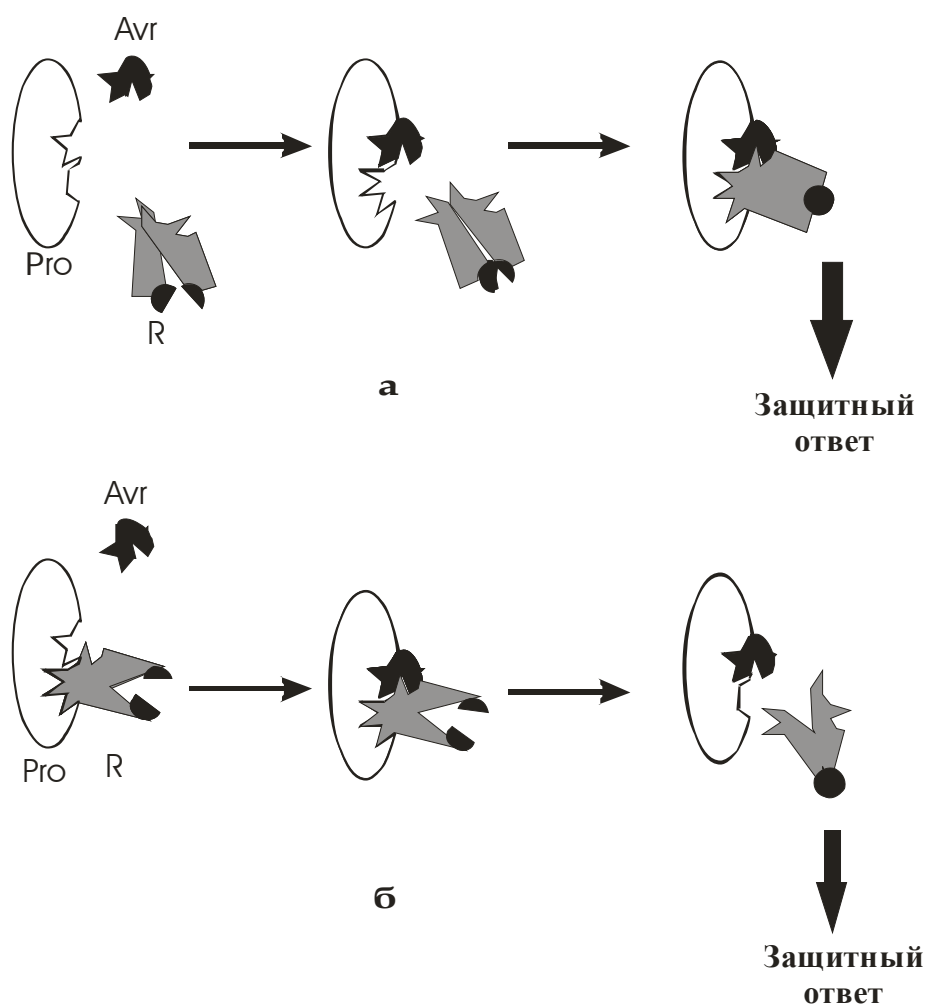


Рис. 2. Два возможных молекулярных механизма индукции обусловленной генами *R* устойчивости. **а** – После присоединения белка Avr к белку растения резко возрастает сродство образованного комплекса к белку R и как следствие происходит распознавание последним белком события патогенной атаки. Прикрепление белка R к этому комплексу приводит к активации защитного ответа. **б** – белок R конститутивно связан с другим белком растения. Присоединение к данному комплексу белка Avr приводит к отделению белка R и его активации, что в конечном итоге индуцирует защитный ответ. **Pro** – белок растения, **R** – белок-продукт гена устойчивости; **Avr** – белок-продукт гена авирулентности.

Генотип родителей

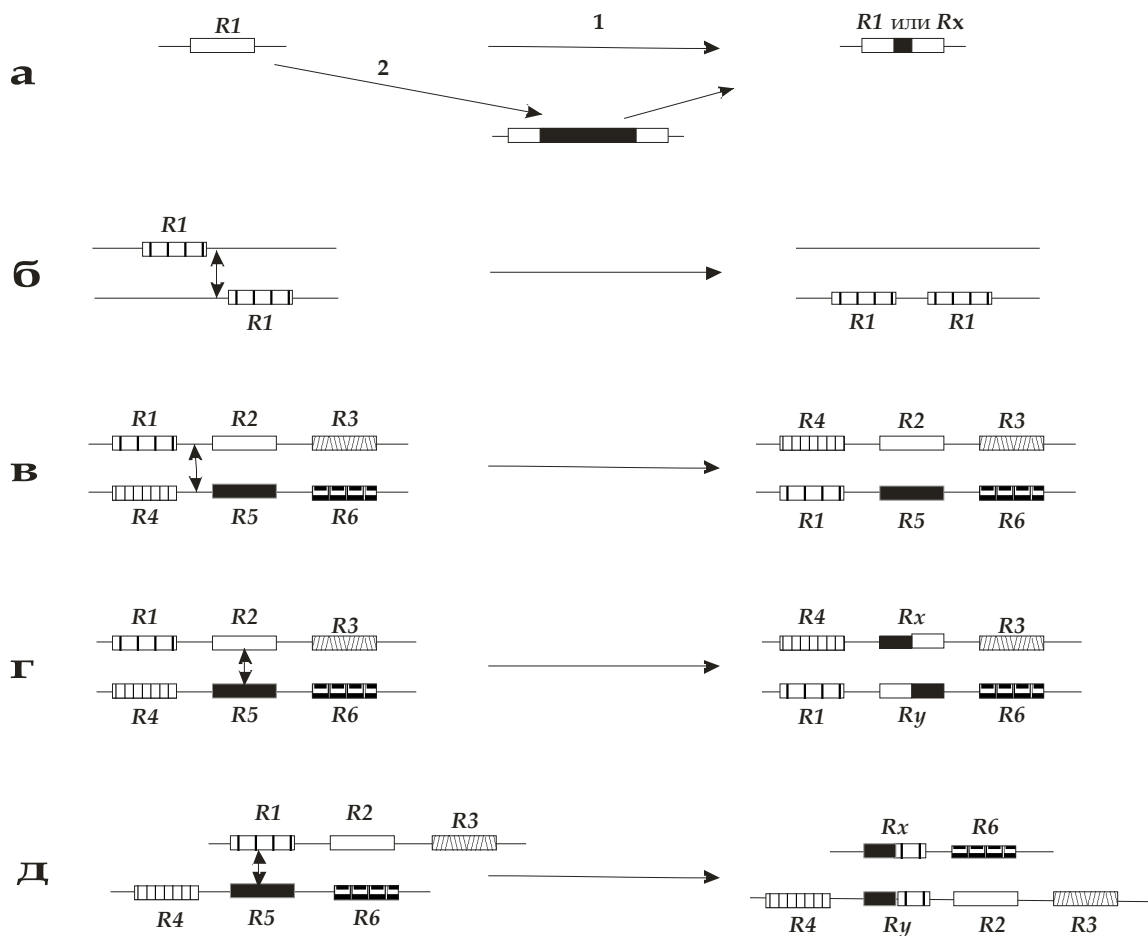


Рис. 3. Возможные пути образования новых сочетаний и новых вариантов генов устойчивости растений. Гены показаны в виде прямоугольников с различной заливкой. **а** – Точечные мутации (1) и вставка и неточное удаление транспозонов (2). Результирующий ген может иметь специфику распознавания родительского типа или измененную. **б** – Дупликация единственной копии гена посредством неэквивалентного кроссинговера. **в** – Пересортировка генов устойчивости в результате межгенного кроссинговера. **г** – Пересортировка генов устойчивости и образование новых специфик распознавания в результате внутригенного кроссинговера. **д** – Пересортировка генов устойчивости, изменение числа генов в сложном локусе и образование новых специфик распознавания в результате внутригенного неэквивалентного кроссинговера. $R1, \dots, R6$ – гены устойчивости родительских организмов; R_x и R_y – новые варианты генов устойчивости.